UNIVERSITÉ DE BORDEAUX II

UNITÉ D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE D'ODONTOLOGIE

3me CYCLE
d'Enseignement Supérieur
N° d'ordre : 3

ANNÉE 1971

Thèse pour le Doctorat en Chirurgie Dentaire

présentée et soutenue publiquement le 1er Décembre

par

Georges DORIGNAC
Chirurgien-Dentiste
Assistant à l'UER d'Odontologie
Né le 23 Juillet 1944 à PRIVAS

Jean-Paul VINCENT
Chirurgien-Dentiste
Lauréat de la Faculté de Médecine
Assistant à l'UER d'Odontologie
Né le 9 Septembre 1942 à LIBOURNE

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA MICROBIOLOGIE DE LA PLAQUE DENTAIRE

I - Recherche des premiers colonisateurs microbiens de l'émail dentaire cliniquement sain.

II - Recherche d'un rôle biologique de l'émail dans la fixation initiale des bactéries à la surface de la dent.

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

MM. P. BENOIT, Professeur de clinique Odonto stomatologique — Président

R. DARGELOS, Maître de Conférence agrégé de Microbiologie
J.C. HESS, Professeur à l'UER d'Odontologie (Université de Paris V)
M. LACAZEDIEU, Professeur à l'UER d'Odontologie
— Juges

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543508_0007

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX II

UNITÉ D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE D'ODONTOLOGIE

3me CYCLE
d'Enseignement Supérieur
N° d'ordre : 3

ANNÉE 1971

Thèse pour le Doctorat en Chirurgie Dentaire

présentée et soutenue publiquement le 1er Décembre

par

Georges DORIGNAC
Chirurgien-Dentiste
Assistant à l'UER d'Odontologie
Né le 23 Juillet 1944 à PRIVAS

Jean-Paul VINCENT
Chirurgien-Dentiste
Lauréat de la Faculté de Médecine
Assistant à l'UER d'Odontologie
Né le 9 Septembre 1942 à LIBOURNE

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA MICROBIOLOGIE DE LA PLAQUE DENTAIRE

I - Recherche des premiers colonisateurs microbiens de l'émail dentaire cliniquement sain.

II - Recherche d'un rôle biologique de l'émail dans la fixation initiale des bactéries à la surface de la dent.

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

MM. **P. BENOIT,** Professeur de clinique Odonto stomatologique — Président

R. DARGELOS, Maitre de Conférence agrégé de Microbiologie
J.C. HESS, Professeur à l'UER d'Odontologie (Université de Paris V)
M. LACAZEDIEU, Professeur à l'UER d'Odontologie
— Juges

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

UNIVERSITE DE BORDEAUX II

Unités d'Enseignement et de Recherche des Sciences Médicales

DOYENS HONORAIRES : MM. G. PORTMANN, R. SIGALAS, F.TAYEAU.

PRESIDENT : M. H. BRICAUD - VICE-PRESIDENTS: MM. R. STOLL,
Cl.BERAUD,
E. SICARD.

Professeurs Honoraires :

MM. CHARRIER, CREYX, DARGET, R. SIGALAS, G. PORTMANN, M. RIVIERE, R. FABRE, P. FOURMENT, E. AUBERTIN, X. J. DUBECQ, L. MASSE, A. LACHAPELE, J. DESPONS, G. DUBOURG, P. DELMAS-MARSALET, A. RIGAUD, J. VILLAR, P. DERVILLEE, P. LE COULANT.

Maître de conférences agrégé honoraire :

M. BERGER

Professeurs titulaires

R. MANDOUL.....	*Zoologie et parasitologie*
J. REBOUL.....	*Carcinologie*
R. GRANDPIERRE	*Physiologie*
P. BROUSTET.....	*Clinique médicale cardiologique*
F. TAYEAU.....	*Biochimie médicale A*
G. MAYER.....	*Histologie et embryologie*
P. BLANQUET.....	*Physique nucléaire appliquée et radiobiologie*
R. SARIC.....	*Clinique médicale*
J.J. DUBARRY.....	*Hydro-climatologie thérapeutique et clinique des maladies de l'appareil digestif*
F.J. TRAISSAC.....	*Clinique thérapeutique*
R. MAHON	*Clinique d'accouchements*
R. PAUTRIZEL.....	*Immunologie et biologie parasitaire*
Mlle G. ROUGIER.....	*Biologie appliquée à l'éducation physique et aux sports*
G. MOUSTARDIER.....	*Bactériologie*
E. BESSIERE.....	*Clinique ophtalmologique*
H. LEGER.....	*Anatomie pathologique*

Professeurs titulaires (suite)

G. MORETTI	*Clinique médicale propédeutique et médecine tropicale*
N.	*Clinique oto-rhino-laryngologique*
P. LAUMONIER	*Clinique chirurgicale pleuro-pulmonaire*
J. LENG-LEVY	*Clinique médicale et des maladies infectieuses*
R. LETAC	*Pathologie et recherche chirurgicales*
E. NEUZIL	*Biochimie médicale B*
R. STOLL.....	*Biologie*
J. LANGE	*Clinique urologique*
P. FREOUR.....	*Hygiène et Clinique de pneumophtisiologie*
J. FAURE.....	*Médecine expérimentale et physiopathologie*
N.	*Clinique chirurgicale des maladies cardiaques*
N.	*Clinique gynécologique*
J. DUHAMEL	*Physique médicale et pharmaceutique*
H. CHOUSSAT	*Pathologie médicale*
L. CHASTRUSSE	*Clinique obstétricale*
P. VERGER.....	*Clinique médicale des maladies des enfants*
F. LAPORTE	*Chirurgie générale*
R. TINGAUD	*Clinique chirurgicale*
Cl.RICHIR	*Anatomie pathologique*
H. BRICAUD	*Médecine générale*
P. BENOIT	*Clinique odonto-stomatologique*
Cl.MARTIN-DUPONT.....	*Clinique néphrologique*
R. CANIVENC.....	*Histologie*
G. DELORME.....	*Electroradiologie*
J. DEPAULIS.....	*Séméiologie chirurgicale*
J. RIVIERE.....	*Séméiologie médicale*
H. DULONG DE ROSNAY	*Bactériologie*
R. DARMAILLACQ	*Chirurgie générale*
H. POUYANNE	*Clinique neuro-chirurgicale*
R. CASTAING	*Réanimation respiratoire et anesthésiologie*
L. DOUTRE.....	*Clinique chirurgicale A*
R. MARAUD	*Histologie et embryologie*
H. CABANIE	*Anatomie*
J. DAVID-CHAUSSE.....	*Rhumatologie*
J. STAEFFEN.....	*Médecine générale*
P. SOURREIL.....	*Dermato-Vénéréologie*
P. LOISEAU	*Clinique Neurologique*
P. L'EPEE.....	*Médecine légale et Médecine du travail*
R. GENESTE.....	*Clinique chirurgicale orthopédique et traumatologique*
L. TEXIER.....	*Clinique des maladies cutanées et syphilitiques*

Professeur associé

J. MOULINIER ..... *Hématologie*

Professeurs sans chaire

J. MARQUEVIELLE ..... *Biochimie médicale*
M. BLANC ..... *Neuro-psychiatrie*
Cl. MASSE..... *Chirurgie générale*
P. DU PASQUIER ..... *Bactériologie*
J.P. DUBECQ..... *Obstétrique*
G. NEVERRE ..... *Physiologie*
J. MEUNIER ..... *Histologie*
A. SERISE ..... *Hygiène*
P. FERRET-BOUIN ..... *Physique médicale*
J. VIDEAU..... *Anatomie*
P. BLANCHOT..... *Médecine générale*
Cl. BERAUD ..... *Thérapeutique*
J. BROUSSIN ..... *Electroradiologie*
R. TESSIER ..... *Pneumo-phtisiologie*
Cl.LAGARDE ..... *Carcinologie*

Maîtres de conférences agrégés

R. JENSEN ..... *Chimie biologique*
Mme J. SECHET ..... *Biochimie médicale*
H. LAZARINI ..... *Médecine légale et Médecine du travail*
J. SOUMIREU-MOURAT .. *Obstétrique*
G. CABANIEU..... *Médecine générale*
R. LE LOURD ..... *Pneumo-phtisiologie*
L. COURAUD ..... *Chirurgie générale*
J. BENTEGEAT ..... *Hématologie*
L. ARNE..... *Médecine générale et thérapeutique*
Cl. MARTIN ..... *Pédiatrie*
C. WONE ..... *Médecine générale et thérapeutique*
J. JULIEN ..... *Médecine générale et thérapeutique*
J.J. BATTIN ..... *Pédiatrie*
M. DALLOCCHIO ..... *Cardiologie et maladies vasculaires*
J. AUBERTIN ..... *Maladies infectieuses*
P. VERIN ..... *Ophtalmologie*
M. GOT ..... *Neuro-chirurgie*
J. TAVERNIER ..... *Electroradiologie :diagnostic et thérapeutique*
J. VINCENT ..... *Physiologie et explorations fonctionnelles*
R. CHEVAIS ..... *Anesthésiologie*
G. GILLARDEAU..... *Anesthésiologie*
G. BRUN ..... *Gynécologie, obstétrique*

Maîtres de conférences agrégés (suite)

J. HONTON ..... *Orthopédie et traumatologie*
A. HUGUES ..... *Cancérologie*
M. SABATHIE ..... *Anesthésiologie*
A. BROUSTET ..... *Médecine interne*
J.L. LATAPIE ..... *Médecine interne*
B. LENG ..... *Médecine interne*
J. PACCALIN ..... *Thérapeutique, réanimation médicale, rééducation fonctionnelle et hydrologie*
J.M. CAILLE ..... *Radiologie*
P. BESSE ..... *Cardiologie*
M. APARICIO ..... *Néphrologie*
Mme C. BEYLOT ..... *Dermato-Vénéréologie*
J.M. GUILLARD ..... *Pédiatrie, génétique médicale*
J. PERISSAT ..... *Chirurgie générale*
D. LANGE ..... *Urologie*
F. COHADON ..... *Neuro-chirurgie*
Mme M.J. LE REBELLER..... *Ophtalmologie*
F.X. MICHELET ..... *Stomatologie*
J. Cl. ROQUES ..... *Biophysique*
A. CASSAIGNE ..... *Biochimie*
J. ROZIER ..... *Physiologie*
J. DANGOUMAU ..... *Pharmacologie*
J. TRIBOULEY ..... *Parasitologie*
G. DELMON ..... *Anatomie pathologique*
Cl. BENSCH ..... *Physiologie*
P. LEMAN ..... *Neuro-chirurgie*
F. MOREAU ..... *Médecine interne*
J.Cl. FAVAREL-GARRIGUES *Thérapeutique, réanimation médicale, rééducation fonctionnelle et hydrologie*
G. COURTY ..... *Pneumo-phtisiologie*
J.P. BROUSTET ..... *Cardiologie*
A. QUINTON ..... *Hépatologie, gastro-entérologie*
B. SANDLER ..... *Pédiatrie, génétique médicale*
P. BOISSIERAS ..... *Chirurgie générale*
M. PARNEIX ..... *Chirurgie générale*
A. LE REBELLER ..... *Orthopédie, traumatologie, chirurgie plastique et reconstructive*
D. DUCASSOU ..... *Biophysique*
Cl. VITAL ..... *Anatomie pathologique*
J. BERNADOU ..... *Médecine préventive et santé publique (option clinique)*
J. SENEGAS ..... *Anatomie et organogénèse (option orthopédie)*

Agrégés en exercice

F. FONTAN ..... *Chirurgie générale*
J. LASSERRE ..... *Orthopédie*

Agrégés libres

G. FAUGERE ..... *Obstétrique*
L. CORCELLE ..... *Ophtalmologie*
M. PORTMANN ..... *Oto-rhino-laryngologie*
F. BALLANGER ..... *Urologie*
J.P. CALAMEL ..... *Chirurgie générale*

UNIVERSITE DE BORDEAUX II

Unité d'Enseignement et de Recherche des Sciences Pharmaceutiques

---

DOYENS HONORAIRES : MM. G. PORTMANN, R. SIGALAS, F. TAYEAU.

PRESIDENT : M. H. BRICAUD - VICE-PRESIDENTS: MM. R. STOLL,
Cl.BERAUD,
E. SICARD.

Professeurs honoraires :

MM. R. GIRARD, C. PIFFAULT, G. VITTE.

Professeurs titulaires

R. CASTAGNOU ..... *Toxicologie et hygiène appliquée*
P. MESNARD ..... *Chimie organique et Chimie analytique*
J. MASQUELIER ..... *Matière médicale*
R. QUILICHINI ..... *Pharmacie galénique*
R. BABIN ..... *Pharmacie chimique*
H. LAUBIE ..... *Botanique et cryptogamie*
R. GOLSE ..... *Chimie générale et Chimie minérale*
J. BAILENGER ..... *Zoologie et biologie animale*
J.Cl. COLLETER ..... *Chimie analytique*
J. CANELLAS ..... *Pharmacodynamie et hydrologie*
R. CROCKETT ..... *Chimie organique et chimie analytique*

Professeurs sans chaire

Cl.VRIGNAUD..... *Physique pharmaceutique*
Mlle S. LARCEBAU ..... *Toxicologie*
G. DEVAUX ..... *Pharmacie chimique*
J. ROQUEBERT ..... *Pharmacodynamie*

Maîtres de conférences agrégés

R. BAUTE ..... *Cryptogamie*
V.R.DARGELOS ..... *Microbiologie*
M. GADRET ..... *Chimie analytique*
E. JOUZIER ..... *Chimie biologique (Pharmacie)*
F. COUSTOU ..... *Législation et déontologie pharmaceutique*
P. AUMONIER ..... *Pharmacie galénique*

UNIVERSITE DE BORDEAUX II

Unité d'Enseignement et de Recherche d'Odontologie

DIRECTEUR : M. P. BENOIT

DIRECTEUR ADJOINT : M. J. SECHET

Professeurs 1er grade

P. BOUSSAGOL ..... *Biologie et Matières fondamentales*
F. CAITUCOLI ..... *Biologie et Matières fondamentales*
J. DULUC ..... *Pathologie et Thérapeutique*
R.G. GUDIN ..... *Orthopédie dento faciale*
M. LACAZEDIEU ..... *Dentisterie opératoire*

Professeurs 2ème grade

J.P. BELAIR ..... *Dentisterie opératoire*
G. BERTRAND ..... *Pathologie et thérapeutique*
Ph. BOUTONNET ..... *Biologie et Matières fondamentales*
G. BRUN ..... *Pathologie et thérapeutique*
P. BRUNET ..... *Pathologie et thérapeutique*
J. DARQUE ..... *Orthopédie dento faciale*
R. FERRAN ..... *Prothèse*
Mme J. FOURTEAU ..... *Orthopédie dento faciale*
P. FOURTEAU ..... *Prothèse*
H. HUGUET ..... *Dentisterie opératoire*
J. LUSSAC ..... *Prothèse*
J. ROUGE ..... *Dentisterie opératoire*
J. SECHET ..... *Dentisterie opératoire*

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur P. BENOIT

Professeur titulaire de clinique odonto-stomatologique
Directeur de l'U.E.R. d'Odontologie de Bordeaux
Stomatologiste des Hôpitaux
Officier des Palmes académiques

Nous avons grandement bénéficié, au cours de nos études de chirurgie dentaire, de votre riche enseignement.

Vous avez bien voulu nous faire l'honneur d'accepter de présider notre jury de thèse.

Qu'il nous soit permis de vous exprimer ici, avec toute notre reconnaissance, l'hommage de notre profond respect.

A NOS JUGES

Monsieur le Professeur R. DARGELOS

Maître de Conférence agrégé de Microbiologie
Docteur en Pharmacie (Université et Etat)
Licencié ès Sciences
Officier des Palmes académiques

Vous avez dirigé nos premiers pas en Microbiologie buccale et nous avons pu admirer votre haute compétence et votre dévouement inlassable.

Tout au long de l'élaboration de cette thèse, nous avons apprécié votre patience pour nous guider et nous corriger.

Que ce travail inaugural soit l'expression de notre profonde gratitude et la preuve de notre respectueux attachement.

Monsieur le Professeur J.C. HESS

Professeur à l'U.E.R. d'Odontologie de l'Université René Descartes, Paris V
Docteur en Chirurgie dentaire

Vous avez hautement contribué à la promotion de la chirurgie dentaire.

Nous vous remercions très respectueusement de l'intérêt que vous avez porté à ce travail et de l'honneur que vous nous faites en acceptant de le juger.

Veuillez trouver ici l'expression de notre réelle admiration pour le brillant endodontiste que vous êtes.

Monsieur le Professeur M. LACAZEDIEU

Professeur à l'U.E.R. d'Odontologie de Bordeaux
Docteur en Médecine dentaire de la Faculté de Médecine de Genève
Chef de Département d'Endodontie

Depuis notre arrivée dans votre service, nous avons pu apprécier votre compétence et votre dynamisme.

Vous nous avez toujours réservé un bienveillant accueil et honoré de votre confiance dans nos tâches d'enseignants permettant ainsi d'exprimer nos personnalités.

Nous espérons pouvoir continuer longtemps à travailler à vos côtés et nous vous assurons de notre respectueux attachement.

A NOS PROFESSEURS

de l'Institut d'Odonto-stomatologie de la Faculté de Médecine

et de Pharmacie de Bordeaux

de la Faculté des Sciences de Bordeaux

A Monsieur P. BOURGOIN

Docteur en Pharmacie
Docteur en Chirurgie dentaire

Vous nous avez aidés à surmonter les difficultés qui ont surgi à l'origine de ce travail.

Eloigné de nous, vous n'avez cessé de nous prodiguer conseils et encouragements.

Nous sommes heureux de vous exprimer ici nos remerciements et notre gratitude.

A Monsieur le Professeur P. CAYEUX

Vous avez bien voulu nous accepter dans votre laboratoire de l'Institut Pasteur de Paris pour un stage d'études au cours duquel nous avons tiré le plus grand profit de votre riche expérience.

Veuillez trouver ici l'expression de nos remerciements sincères et respectueux.

A Monsieur le Professeur P. BOUSSAGOL

En témoignage de reconnaissance et de respect.

A Monsieur le Docteur GUILLO

Nous tenons à vous remercier vivement de l'intérêt que vous avez porté à ce travail en nous permettant d'exploiter une partie de votre bibliographie.

Au personnel technique de l'U.E.R. d'Odontologie

Avec nos remerciements pour son aide et son dévouement.

A NOS AMIS

A NOS FAMILLES

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE LA MICROBIOLOGIE DE LA "PLAQUE DENTAIRE"

I - Recherche des premiers colonisateurs microbiens de l'émail dentaire cliniquement sain.

II - Recherche d'un rôle biologique de l'émail dans la fixation initiale des bactéries à la surface de la dent.

S O M M A I R E

Pages

P R E A M B U L E 4

RECHERCHES ANTERIEURES : Microbiologie de la "plaque dentaire" 5

I - Historique et définition 6

II - Analyse bactériologique de la "plaque dentaire" 9

1 - Analyse quantitative et qualitative 9

2 - Dépendance du développement bactérien de la "plaque" vis-à-vis des facteurs écologiques du milieu buccal 10

3 - Les phases successives de la colonisation bactérienne de la "plaque" 10

4 - Les Streptocoques dans la "plaque dentaire" constituée 12

5 - Importance du rôle des polysaccharides extracellulaires d'origine bactérienne dans la "plaque dentaire" 14

III - Le mécanisme de formation de la "plaque" 15

IV - Conclusion 17

RECHERCHES PERSONNELLES - PREMIERE PARTIE : Recherche des premiers colonisateurs microbiens de l'émail dentaire cliniquement sain 18

I - Introduction 19

Pages

II - Protocole expérimental 22
A - Prélèvements dentaires 22
1 - Elimination de l'ensemble des bactéries de la surface de l'émail 22
2 - Elimination exclusive des bactéries non fixées sur l'émail 23
3 - Prélèvement des bactéries fixées sur l'émail 23
4 - Détermination du temps minimum moyen nécessaire à la fixation des bactéries à la surface de l'émail 25
5 - Conservation des Streptocoques 26
B - Prélèvements salivaires 28
1 - Examen microscopique direct de la salive 28
2 - Culture microbienne 28
3 - Examen des colonies bactériennes après isolement 29

III - Résultats 30
A - Prélèvements dentaires 30
B - Prélèvements salivaires 46
IV - Discussion et conclusion 52

RECHERCHES PERSONNELLES - DEUXIEME PARTIE : Recherche d'un rôle biologique de l'émail dans la fixation initiale des bactéries à la surface de la dent 55

- INTRODUCTION 56

- ETUDE EXPERIMENTALE 61

I - Action de l'émail sur la croissance bactérienne en milieu gélosé nutritif 62
A - Protocole expérimental 62
1 - Les souches bactériennes 62

Pages

a) Origine 62
b) Entretien et culture des souches bactériennes 62
2 - Les matériaux dentaires 63
a) Les fragments de dents 63
b) La poudre d'émail 63
3 - Le milieu gélosé nutritif 64
4 - Mise en contact des bactéries avec un fragment de dents en milieu gélosé nutritif 64
5 - Mise en contact des bactéries avec la poudre d'émail sur milieu gélosé nutritif 64
B - Résultats et conclusion 65

II - Action de la poudre d'émail sur le comportement bactérien en milieu gélosé inerte 66
A - Protocole expérimental 66
1 - Les souches bactériennes 66
2 - Préparation des souches en vue de leur étalement sur milieu inerte 67
3 - Préparation de la poudre d'émail 67
4 - Le milieu inerte 68
5 - Mise en contact des germes avec la poudre d'émail sur les milieux inertes 68
6 - Appréciation du critère de vitalité des germes en fonction du temps 69
B - Résultats 69
C - Interprétation des résultats 100
D - Discussion et conclusion 109

C O N C L U S I O N S G E N E R A L E S 110

B I B L I O G R A P H I E 112

P R E A M B U L E

Les liens de cause à effet qui unissent la "plaque dentaire" à la carie et aux maladies du parodonte ont fait de la "plaque dentaire" durant ces dernières années un véritable pôle d'attraction pour la recherche.

Bien que l'on admette actuellement que la carie soit nécessairement liée à la présence sur la surface dentaire d'une "plaque bactérienne", les nombreux travaux antérieurs, notamment américains et suédois, montrent qu'il existe encore des divergences dans la nature de ces liens.

Certes, cette constante biologique nécessaire à l'éclosion carieuse représente, à elle seule, un élément très complexe dans lequel interviennent de nombreux facteurs : physiques, chimiques, biochimiques et bactériologiques ; mais, l'élément bactérien semble jouer un rôle capital dans la formation, l'évolution et le potentiel pathogénique de ce dépôt et l'on tend à considérer, de nos jours, la carie dentaire comme une maladie bactérienne non spécifique.

R E C H E R C H E S A N T E R I E U R E S

Microbiologie de la "plaque dentaire"

- I -
HISTORIQUE ET DEFINITION

A la fin du XVIIème siècle, VAN LEEUWENHOECK est le premier à rapporter l'existence de petits "animalcules", invisibles à l'oeil nu, dans la salive et les dépôts dentaires.

Il faut attendre deux siècles et l'établissement de la théorie microbienne des maladies avec le développement des techniques bactériologiques de prélèvements et de cultures pour que les dépôts dentaires observés par LEEUWENHOECK soient étudiés.

Dès lors, les termes se succèdent pour tenter de définir ces dépôts ; ce sont les "fibres de BUHLMANN" (9), "l'enduit gluant des dents" de FICINUS (29), "la glue des Leptothrix" de LEBER et ROTTENSTEIN (68), "le feutrage de microorganismes" de WILLIAMS (116, 117, 118).

Pour la première fois en 1898, BLACK, concluant ses travaux (6, 7), parle d'une "plaque microbienne gélatineuse" ; ainsi est né le terme de plaque.

Ce terme repris ensuite par la plupart des auteurs aura pour chacun d'eux une signification différente.

C'est ainsi que pour WILD (115), STEPHAN (106), WINCKLER et DIRKS (119), le terme de "plaque" désigne tout dépôt mou se développant sur les surfaces dentaires et adhérent à ces surfaces comprenant des microorganismes, des cellules épithéliales desquamées, des leucocytes et des débris alimentaires.

En 1910, pour KIRK (60) et plus près de nous, en 1961, pour MILLIN et SMITH (83) la "plaque" est une cuticule amicrobienne et acellulaire.

Enfin, DAWE, JENKINS et TONGE (23) utilisent le terme de "plaque dentaire" pour définir tout dépôt mou à l'exclusion des débris alimentaires.

Cette grande confusion qui a longtemps régné dans la définition de la "plaque dentaire" tend à disparaître actuellement.

En effet, les descriptions plus récentes résultant d'études histologique, histochimique, biochimique et bactériologique, font une large part aux microorganismes ; le dépôt mou apparaîssant le plus communément sur la surface dentaire est composé presque entièrement de microorganismes variés avec une matrice organique qui dérive à la fois des glycoprotéines salivaires et des produits du métabolisme microbien.

En 1969, SCHWARTZ et MASSLER (103) s'inspirent des définitions proposées par MANDEL (76), Mac DOUGALL (70, 71, 72), MUHLEMANN (84), STRALFORS (107), WINCKLER et DIRKS (119), pour décrire la "plaque dentaire" comme étant une "couche microbienne dense qui s'accumule sur la surface dentaire composée de filaments, de bâtonnets et de cocci emballés dans une matrice interbactérienne".

Aujourd'hui et malgré la complexité des éléments qui la constituent, la "plaque dentaire" peut être définie comme une couche molle, dense, jaunâtre, consistant en microorganismes variés englués dans une matrice riche en polysaccharides et en glycoprotéines, adhérente à la surface dentaire, au tartre ou à tout autre surface ferme.

Cette description plus précise individualise la "plaque dentaire" constituée et permet de mieux la différencier des autres dépôts de matériaux divers à la surface de la dent.

La "plaque dentaire" se différencie notamment de la "pellicule acquise", résultat de la précipitation de glycoprotéines salivaires à la surface de l'hydroxylapatite (1, 2, 28, 52, 67, 69, 73, 74, 93, 102), par le fait essentiel qu'elle est amicrobienne (32, 56, 70, 71, 72, 79, 80, 100).

Elle se différencie également du tartre qui est cette masse calcifiée de nature très complexe qui se dépose au niveau du collet des dents et du sillon gingivo-dentaire, le plus souvent en regard de la lumière des canaux excréteurs des glandes salivaires ; il est composé d'une matrice organique faite de polysaccharides et de cellules diverses imprégnée par 70 à 90 pour cent de substances minérales (44, 99).

Elle se différencie enfin de la "materia alba", qui est un mélange lisse et blanchâtre de protéines salivaires, de bactéries, de cellules épithéliales desquamées, de polynucléaires, qui adhère étroitement aux surfaces dentaires, à la "plaque" elle-même ou à la gencive (120), mais qui est facilement éliminée par un spray d'eau.

Malgré ces caractères distinctifs les dépôts tels que "la pellicule acquise" et le tartre peuvent avoir des rapports étroits avec la "plaque dentaire". En effet, la "pellicule acquise" pourrait jouer le rôle de précurseur dans la formation de la plaque (70, 71, 72) alors que le tartre en serait une transformation calcique (44, 99).

- II -

ANALYSE BACTERIOLOGIQUE DE LA PLAQUE DENTAIRE

---

1 - Analyse quantitative et qualitative.

De nombreuses recherches ont été entreprises pour analyser la composition microbienne de la "plaque dentaire", tant du point de vue quantitatif que qualitatif.

Elles mettent en jeu l'examen microscopique direct (4, 107), l'isolement de microorganismes par milieux sélectifs (65, 78) ou par cultures sur milieux non sélectifs enrichis (53, 54, 107) et des analyses antigéniques (35).

En 1964, GIBBONS, SOCRANSKY, ARAUJO et VAN HOUTE (37) étudient les bactéries cultivables prédominantes de la "plaque dentaire" constituée.

Ces derniers auteurs rapportent que sur un nombre total de $2,5 \times 10^{11}$ bactéries, $4,6 \times 10^{10}$ sont des organismes anaérobies viables et $2,5 \times 10^{10}$ sont des organismes aérobies viables.

D'un point de vue qualitatif, ils montrent que la flore prédominante de la "plaque dentaire" est composée de :

- Cocci G + anaérobies facultatifs ..... 27 %
- Bâtonnets G + anaérobies facultatifs ..... 23 %
- Bâtonnets G + anaérobies stricts ..... 18 %
- Cocci G + anaérobies stricts ..... 13 %

- Veillonella ..... 6 %
- Bacteroïdes ..... 4 %
- Fusobactéries ..... 4 %
- Neisseriae ..... 3 %
- Vibrions ..... 2 %

D'autre part, ils déduisent de ces résultats que la microflore de la "plaque dentaire" est plus complexe que celle décrite par STRALFORS (107) et plus constante que ne le suggéraient HEMMENS et ses collaborateurs (53, 54).

2 - *Dépendance du développement bactérien de la "plaque" vis-à-vis des facteurs écologiques du milieu buccal.*

Récemment, en 1969, KRASSE (65) considère surtout la "plaque dentaire" comme "une culture variée de bactéries dans un milieu naturel complexe".

En effet, le développement des bactéries dépend étroitement d'un certain nombre de facteurs qui conditionnent l'écologie buccale et que CARLSSON a décrits (figure 1) dans une communication personnelle rapportée par EGELBERG (27).

Or, ces facteurs se modifient constamment et entraînent des variations dans la population bactérienne qui ont permis de reconnaître plusieurs étapes dans la colonisation microbienne de la "plaque".

3 - *Les phases successives de la colonisation bactérienne de la "plaque".*

En 1966, au cours de travaux sur les gingivites expérimentales des auteurs tels que THEILADE, WRIGHT, JENSEN, LOE (108) et plus récemment, en 1969, GENCO, EVANS et ELLISON (34), décrivent par des techniques bactériologiques et ultramicroscopiques, la succession de trois phases distinctes dans la colonisation microbienne de la "plaque".

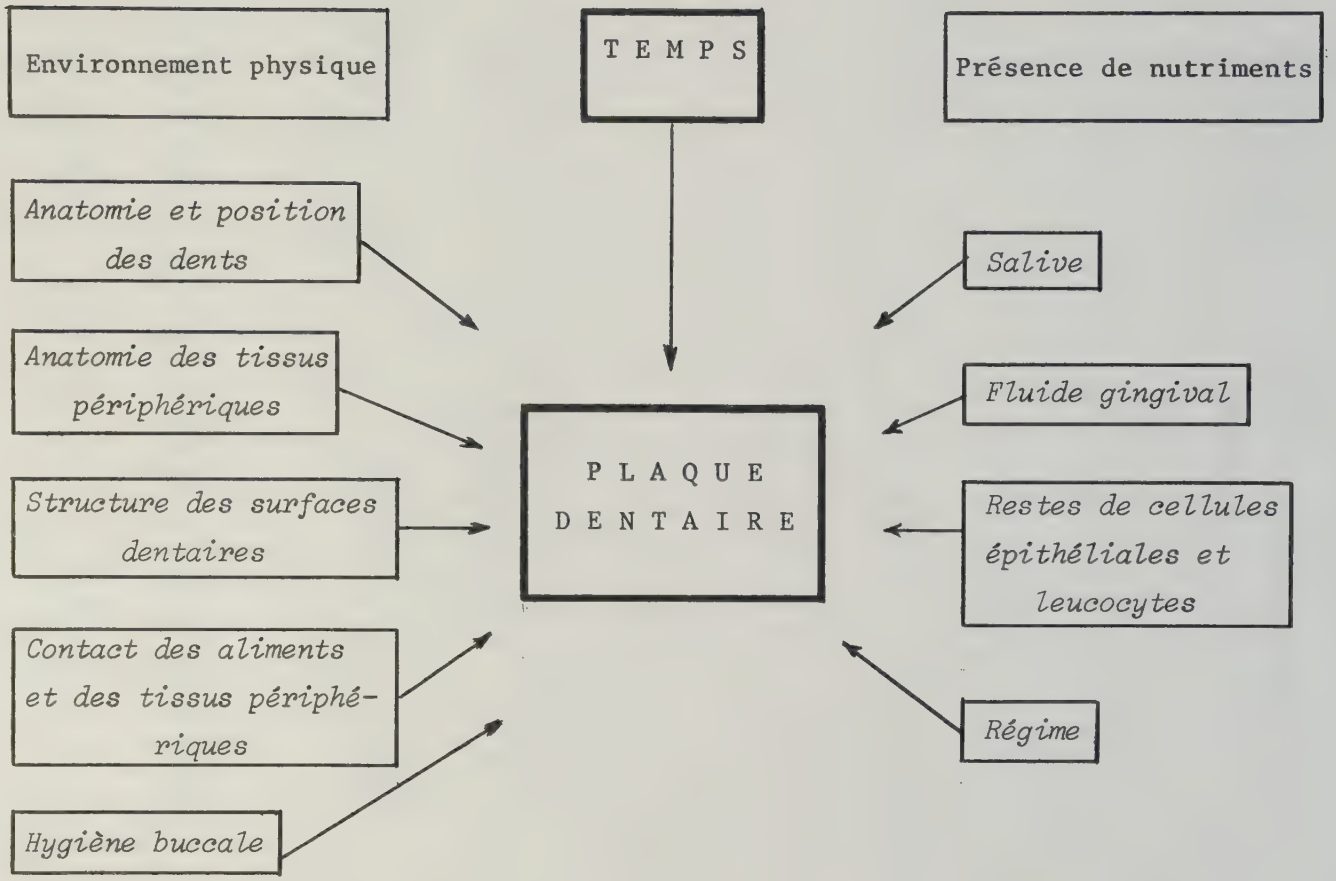


Figure 1 - Les facteurs dont dépend le développement de la "plaque dentaire" (schéma de CARLSSON rapporté par EGELBERG, 27).

- Durant les premières 48 heures de sa formation, ils notent une prolifération de cocci et bâtonnets Gram positif puis l'apparition de cocci et bâtonnets Gram négatif.
- Les 2 à 4 jours suivants sont caractérisés par l'apparition de Fusobactéries et de filaments.
- Au-delà de cette période, la flore s'enrichit en Spirilles et Spirochètes ; ces dernières formes représentent environ 50 pour cent de la flore totale d'une plaque de 7 jours.

Plus tard, RITZ (88) en étudiant également les changements de population microbienne de la "plaque dentaire" trouve que durant les premières étapes de sa formation les genres Streptococcus, Neisseirae et Nocardia semblent prédominer. Au 9ème jour, il montre que la flore est composée en majorité de Streptocoques, d'Actinomycès, de Veillonella et de Corynébactéries et note que les Fusobactéries sont en proportion plus élevée que dans la "plaque" jeune.

L'auteur pense que cette évolution vers les organismes anaérobies dépend à la fois de la croissance initiale de germes aérobies ou anaérobies facultatifs et d'une augmentation de l'épaisseur de la "plaque" créant ainsi localement des conditions d'anaérobiose.

Cependant, bien que la flore microbienne varie au cours de l'évolution de la "plaque dentaire" et qu'elle ne soit pas la même dans une "plaque jeune" que dans une "plaque adulte", les Streptocoques restent les microorganismes les plus souvent présents (5, 26, 43, 51, 53, 107).

4 - Les Streptocoques dans la "plaque dentaire" constituée.

Les travaux de GIBBONS (37, 38, 39) en 1964, et plus près de nous ceux de CARLSSON (12, 13, 14, 15, 16), GUGGENHEIM (49) et ROGERS (91) montrent que les Streptocoques sont les microorganismes dominants dans les "plaques jeunes".

Selon THEILADE (109), CARLSSON et EGELBERG (11) puis RITZ (88) nous savons que dans les "plaques âgées", il y a un changement dans les proportions des groupes bactériens en faveur des organismes filamenteux, des Veillonella et des Corynébactéries.

Quoiqu'il en soit la fréquence des Streptocoques dans la "plaque dentaire" associée au fait que certaines souches de Streptocoques humains soient capables d'induire des caries superficielles chez le hamster albinos (30, 31) ont permis d'envisager l'importance du rôle de ces germes dans l'évolution du processus carieux (46, 47, 48, 59, 63, 64). Ainsi les études sur les Streptocoques de la cavité buccale se sont multipliées.

En 1968, CARLSSON (16) réalise une étude numérique et taxonomique des Streptocoques de la "plaque dentaire" pour les comparer à ceux rencontrés dans d'autres régions de la cavité buccale.

L'auteur rapporte que la population Streptococcique contenue dans la salive est moins importante que celle rencontrée sur les surfaces dentaires. En outre, il confirme les observations antérieures de KRASSE (62) puis de GIBBONS, KAPSIMALIS et SOCRANSKY (36) en montrant que "Streptococcus sanguis" et "Streptococcus mutans" ont pour habitat le plus favorable la surface dentaire par opposition à "Streptococcus salivarius" qui siège plus fréquemment sur la langue.

Selon GUGGENHEIM (49), il semble difficile de classer d'après des critères biochimiques et sérologiques toutes les souches de Streptocoques de la "plaque dentaire" ; cependant, un caractère remarquable commun à tous ces Streptocoques est leur aptitude à synthétiser, à partir du saccharose, des polysaccharides extracellulaires du type dextrane et lévane.

5 - *Importance du rôle des polysaccharides extracellulaires d'origine bactérienne dans la "plaque dentaire".*

En 1965, CARLSSON et EGELBERG (11) démontrent que la fraction polysaccharidique de la plaque est élaborée par les bactéries, à partir du saccharose.

D'autre part, selon JORDAN et KEYES (58) puis CARLSSON et SUNDSTRÖM (17) le saccharose est indispensable à la croissance de la "plaque" et ne peut être remplacé par le glucose, le fructose, le galactose, le lactose ou le sorbitol.

Ces polysaccharides extracellulaires qui entrent dans la constitution de la matrice interbactérienne appartiennent aux groupes des dextranes et lévanes parmi lesquels les dextranes représentent le constituant majeur en jouant le rôle important de ciment intercellulaire permettant l'accolement des bactéries entre elles (19, 40). De plus, cette matrice interbactérienne renfermerait aussi, selon HOUVER (56), des quantités non négligeables de lipides, protéines et éléments inorganiques.

Outre cette action "collante" des dextranes, GUGGENHEIM (49) signale qu'ils possèdent une grande affinité pour l'émail susceptible d'expliquer l'adhérence de la "plaque" à la surface dentaire.

Déjà en 1967, GIBBONS et BANGHART (40) et plus récemment en 1970, ROLLA et MATHIESEN (94, 95) démontrent l'adhérence des dextranes à l'hydroxylapatite. Ce fait, identique à celui mis en évidence par TISELIUS, HJERTEN et LEVIN (110) puis BERNARDI et KAWASAKI (3) pour les protéines, indique que les protéines et les dextranes pourraient adhérer à l'hydroxylapatite par des liaisons entre les groupements carboxyle ou phosphate des protéines ou des dextranes et le Calcium de l'hydroxylapatite.

Quant aux polysaccharides extracellulaires du type lévane mis en évidence par Mac DOUGALL (72) puis MANLY et DAIN (77), leur rôle est actuellement discuté.

- III -

LE MECANISME DE FORMATION DE LA PLAQUE

La plupart des auteurs (41, 56, 57, 67, 85) considèrent avec Mac DOUGALL (70, 71, 72) que la première étape de l'édification de la "plaque dentaire" est la formation d'une "pellicule acquise" puis son envahissement microbien.

Dès 1932, DOBBS (24) observe que les mucines salivaires précipitent spontanément dans une salive au repos et suppose que ce matériau, une fois déposé sur les dents, devient une partie de la "plaque" mature riche en bactéries. Cette observation est confirmée par TRESTER et KLEINBERG (111) en 1962. Plus récemment, ce point de vue a été partagé par MANDEL (76).

Nous avons déjà vu que la formation de ce dépôt initial résulte d'une affinité entre le calcium de l'hydroxylapatite et les groupements carboxyle et phosphate des protéines salivaires (3, 28, 52, 73, 110) et que le dextrane pouvait s'incorporer à la "pellicule acquise" (94, 95).

Selon GIBBONS et FITZGERALD (42), il y aurait accolement des Streptocoques cariogènes à la couche de dextrane par un mécanisme enzymatique.

Pour SILVERMAN et KLEINBERG (104) la présence de calcium et le pH acide de la salive favoriseraient d'une part la précipitation des protéines salivaires sur la dent et, d'autre part, l'agglutination des bactéries entre elles et aux protéines de la "pellicule" par neutralisation de leurs charges électronégatives.

Enfin dans une étude ultramicroscopique récente sur le développement de la "plaque dentaire" humaine, HOUVER (56) montre qu'il y a aussi, 24 heures après une étape prophylactique, formation d'un dépôt homogène et amicrobien d'environ 1000 Å d'épaisseur, sur les faces vestibulaires et linguales des premières prémolaires inférieures et supérieures. Ce dépôt est suivi de l'agrégation couche par couche de bactéries.

Tout d'abord, une couche monomicrobienne "d'organismes coccoïdes" viendrait coloniser la "pellicule acquise" et CARLSSON (15) considère que les glycoprotéines salivaires de ce dépôt initial pourraient jouer le rôle de facteur nutritif pour les Streptocoques plus que pour d'autres germes.

On constate donc que, pour tous ces auteurs, la présence d'un film protéinique,"pellicule acquise" d'origine salivaire, sert secondairement de support attractif pour les bactéries.

En revanche, FRANK et BRENDEL (32) considèrent la possibilité d'un accolement direct des bactéries à l'hydroxylapatite dans la première étape de la formation de la "plaque dentaire".

En effet, en 1966, ces auteurs ont mis en évidence, par des techniques ultramicroscopiques sur des sections de dents non décalcifiées, l'apparition d'une couche de bactéries directement accolées par leurs parois aux cristaux d'hydroxylapatite sans couche protéinique intermédiaire.

Quel que soit le mécanisme premier de sa formation, le développement de la "plaque dentaire" est le résultat d'une part de la multiplication des microorganismes déjà accolés et,d'autre part,de la fixation de nouvelles bactéries ; ainsi se constituent des couches concentriques qui contribuent à l'accroissement en épaisseur de la "plaque".

- IV -

C O N C L U S I O N

Dans cet essai de synthèse des recherches antérieures sur la microbiologie de la "plaque dentaire", il apparaît que nos connaissances sur les espèces microbiennes de primo implantation sur la surface de la dent sont encore incomplètes et qu'il subsiste des obscurités dans les rapports existant entre ces germes et leur support.

En conséquence, nous avons cherché à savoir dans une première étude expérimentale quels étaient les premiers colonisateurs microbiens de la surface intacte d'une dent.

Dans une seconde partie expérimentale nous nous sommes posés la question de savoir si l'émail, à lui seul, pouvait jouer le rôle de substrat biologique capable d'attirer, en priorité, les germes pionniers.

R E C H E R C H E S P E R S O N N E L L E S

P R E M I E R E P A R T I E

Recherche des premiers colonisateurs microbiens de l'émail dentaire cliniquement sain

- I -
I N T R O D U C T I O N

La plupart des recherches entreprises jusqu'ici sur la microbiologie de la "plaque dentaire" constituée soulignent l'importance des cocci Gram positif et plus particulièrement des Streptocoques.

En ce qui concerne l'étude de la phase initiale de la formation de la "plaque dentaire", quelques auteurs ont déjà cherché à mettre en évidence les premiers germes qui s'implantent sur l'émail.

Certains ont utilisé le microscope électronique.

Ainsi, dans des travaux récents, HOUVER (56) examine des plaques de 1, 2, 3, 6 et 7 jours ; il observe entre 24 et 48 heures après décapage de la zone étudiée, une couche monomicrobienne de cocci qui s'accolent à la "pellicule acquise". Très rarement, l'auteur trouve à ce stade des formes filamenteuses ou en bâtonnets.

De même, en 1970, CRITCHLEY et SAXTON (19, 20, 96), à partir de prélèvements effectués sur les incisives centrales supérieures, observent au microscope électronique des "formes coccoïdes" une heure après nettoyage de la surface dentaire.

Or, il n'est pas possible d'identifier de façon précise des germes mis en évidence par les seules techniques histologiques. Cette détermination ne peut se faire que par des techniques bactériologiques; ainsi, divers auteurs ont travaillé dans ce sens :

En 1968, CARLSSON (16) dans son étude numérique et taxonomique

sur les Streptocoques de la "plaque dentaire", réalise une série d'expériences dans lesquelles il prélève des "plaques" au bout de 24 heures et 72 heures, au moyen d'un coton stérile frotté sur toute la surface occlusale des dents. Dès 24 heures, il isole des Streptocoques sur "mitis salivarius agar", milieu mis au point par CHAPMAN pour l'isolement des Streptocoques. De plus, CARLSSON considère les espèces sanguis et mutans comme dominantes parmi ces germes pionniers.

Les résultats obtenus par RITZ (89, 90) diffèrent quelque peu de ceux de CARLSSON ; en effet, parmi les formes bactériennes recueillies à partir de prélèvements effectués au bout de 24 heures sur les faces vestibulaires des incisives centrales supérieures et inférieures,l'auteur identifie en plus des Streptocoques, des Neisseriae et Nocardia après culture sur milieu "trypticase soy agar" (B.B.L.) et sur milieux sélectifs pour Neisseriae et Nocardia.

Nous voyons que jusqu'ici,tous les auteurs se sont adressés à des plaques qui avaient au moins 24 heures, à l'exception de CRITCHLEY et SAXTON (19, 20) qui font une observation au bout d'une heure mais ne nous donnent aucune identification bactérienne précise.

Il semble finalement que seuls VAN HOUTE, GIBBONS et BANGHART (112), au cours de recherches très récentes (1970) sur les facteurs de l'adhérence des Streptocoques à la surface de l'émail dentaire, aient tenté d'identifier les premiers microorganismes qui se fixent à la surface intacte de la dent.

Ces auteurs ont effectué 32 prélèvements sur la surface intacte des incisives centrales supérieures, 30 à 120 minutes après le nettoyage des dents. Parmi ces prélèvements, tous sont positifs au bout de 120 minutes alors que dans 10 cas ils apparaîssent négatifs après 30 minutes.

D'autre part, les souches isolées sont pour la plupart de Streptococcus sanguis et de Streptococcus mitis.

Ces derniers travaux associés aux expériences encore peu nombreuses de ceux qui ont déjà cherché à identifier les premiers germes qui se fixent sur l'émail ont en partie inspiré notre recherche.

Toujours dans le cadre de l'étude d'une implantation bactérienne précoce nous avons voulu savoir, d'une part, quel était le temps minimum nécessaire à la primo-fixation des bactéries sur la surface de l'émail dentaire cliniquement sain et, d'autre part, quels étaient ces germes pionniers.

- II -
PROTOCOLE EXPERIMENTAL

Cette étude expérimentale a nécessité l'exécution, d'une part, de prélèvements dentaires et, d'autre part, de prélèvements salivaires, ainsi que leur analyse bactériologique.

A - *PRELEVEMENTS DENTAIRES.*

Des prélèvements dentaires ont été effectués sur 26 sujets âgés de 20 à 25 ans, sans régime alimentaire particulier, s'astreignant à une hygiène buccale normale et dont l'état dentaire était variable.

Ces prélèvements ont été réalisés, dans tous les cas, au niveau du versant cuspidien occlusal d'une molaire ou d'une prémolaire cliniquement saine. Le choix de ce lieu fut conditionné par sa facilité de nettoyage, sa facilité d'accès et le minimum de risques de contamination salivaire au cours du prélèvement.

Nous avons été amenés à effectuer les opérations suivantes :

1 - *ELIMINATION DE L'ENSEMBLE DES BACTERIES DE LA SURFACE DE L'EMAIL.*

Elle est réalisée par une mise à nu soigneuse de l'émail grâce à un brossage énergique, au moyen d'une brossette circulaire montée sur

le tour dentaire (12 000 tours/mn associé à l'application d'une pâte à détartrer du type "Detartrine".

La surface ainsi décapée est abondamment rincée au moyen d'un jet d'eau sous pression, puis minutieusement stérilisée à l'alcool à 90° employé en badigeonnage.

2 - ELIMINATION EXCLUSIVE DES BACTERIES NON FIXEES SUR L'EMAIL.

Elle est obtenue en mettant en jeu l'action mécanique d'un jet d'eau puis d'un jet d'air à une distance approximative de 5 cm, appliqués chacun 30 secondes.

Le jet d'air, en plus de son action mécanique, supprime le film aqueux de la surface dentaire. Un tamponnement léger de la face occlusale au coton stérile permet l'absorption des dernières traces d'humidité et des dernières bactéries non fixées.

3 - PRELEVEMENT DES BACTERIES FIXEES SUR L'EMAIL.

Au cours de l'étape précédente, la dent est isolée au moyen de rouleaux de coton salivaire stériles maintenus par l'automaton d'EGGLER aussitôt la mise en jeu de l'action mécanique du jet d'eau.

Le prélèvement destiné à la recherche des bactéries fixées est réalisé par grattage à l'aide d'une sonde spéciale, à extrémité aplatie, dérivée d'une sonde lisse de DOMLDSON à usage dentaire.

Cette sonde à prélèvement, montée sur une pince à forci-pression du type PEAN, est stérilisée à la flamme.

Le versant cuspidien est raclé fortement en allant du sillon occlusal médian vers le sommet cuspidien.

De tels prélèvements sont effectués au temps zéro correspondant à la mise à nu de l'émail puis à des intervalles de trente minutes.

4 - CULTURE BACTERIENNE.

Un ensemencement immédiat sur milieu solide n'est pas réalisé en raison de la pauvreté du prélèvement ; c'est pourquoi ce prélèvement est ensemencé directement dans un milieu d'enrichissement liquide favorable au développement et à la multiplication de l'ensemble des bactéries aérobies et anaréobies.

Le milieu utilisé est le milieu au thioglycolate et résazurine mis au point par BREWER (8) (Difco), dont la composition est la suivante :

- peptone pancréatique de caséine (trypticase) 15
- L-cystine 0,5
- glucose 5
- extrait de levure 5
- chlorure de sodium 2,5
- thioglycolate de sodium 0,5
- résazurine 0,001
- gélose 0,75
- eau distillée q.s.p. ..... 1 000 ml

pH = 7,1

Chaque prélèvement sert à ensemencer 10 ml de ce milieu et la culture est incubée à 37°C pendant 7 jours.

Toutes les 24 heures un isolement bactérien est réalisé sur deux milieux solides :

- la gélose nutritive additionnée de sang de cheval défibriné :
  - . extrait de viande Liebig 5
  - . peptone spéciale 10
  - . chlorure de sodium 2,5
  - . phosphate monopotassique 0,7
  - . phosphate disodique 8,3
  - . gélose 15
  - . eau q.s.p. 1 000 ml

sang de cheval défibriné : 5 %.

- le milieu gélosé pour Lactobacilles de ROGOSA, MITCHELL et WISEMAN (92), Lactobacillus sélective agar (B.B.L.) :

. trypticase	10
. extrait de levure	5
. phosphate monopotassique	6
. citrate d'ammonium	2
. dextrose	20
. monoleate de Sorbitol	1
. acétate de sodium hydraté	25
. agar agar	15
. sulfate de magnésium	0,575
. sulfate de manganèse	0,120
. sulfate ferreux	0,034
. eau q.s.p.	1 000 ml

Ce milieu est additionné d'acide acétique pour obtenir un pH voisin de 4,5.

La gélose nutritive additionnée de 5 pour 100 de sang de cheval défibriné est incubée à 37°C en aérobiose et en anaérobiose. L'anaérobiose est obtenue dans une jarre hermétique de laquelle l'oxygène est éliminé par combinaison catalytique à l'hydrogène et remplacé par du gaz carbonique grâce à l'emploi d'enveloppes "gaspaks" (B.B.L.).

Le milieu gélosé pour Lactobacilles est incubé à 37°C uniquement en aérobiose.

5 - DETERMINATION DU TEMPS MINIMUM MOYEN NECESSAIRE A LA FIXATION DES BACTERIES A LA SURFACE DE L'EMAIL.

Les cultures faites à partir des prélèvements effectués au temps zéro ont toutes été négatives. Celles réalisées à partir des prélèvements effectués au temps 2 h 30' ont toutes été positives.

Les prélèvements faits dans les temps intermédiaires entre zéro

et 2 h 30' ont donné lieu à des cultures soit négatives, soit positives.

Par conséquent, dans les conditions expérimentales choisies pour cette étude, le temps minimum moyen nécessaire à la fixation des bactéries sur l'émail dentaire est égal à 2 h 30'.

Tous les prélèvements destinés à l'étude de l'implantation bactérienne précoce sur l'émail ont donc été effectués 2 h 30' après la mise à nu de cet émail.

6 - CONSERVATION DES STREPTOCOQUES.

Les souches de Streptocoques, isolées à partir des prélèvements effectués à 2 h 30', sont conservées au laboratoire dans la gélose V.F. de l'Institut Pasteur dont la composition est la suivante :

. Digestion viande-foie ..... 1 000 cc
. gélose 8
. glucose 2

pH = 7,4.

Les tubes de gélose V.F. regénérée sont ensemencés sur toute la hauteur du milieu.

Après une incubation de 48 heures à 37°C les tubes de culture sont entreposés au réfrigérateur réglé à + 4°C.

Les opérations qui nous ont conduits à l'isolement des bactéries fixées à la surface de l'émail dentaire cliniquement sain 2 h 30' après une étape prophylactique sont réunies dans le tableau 1.

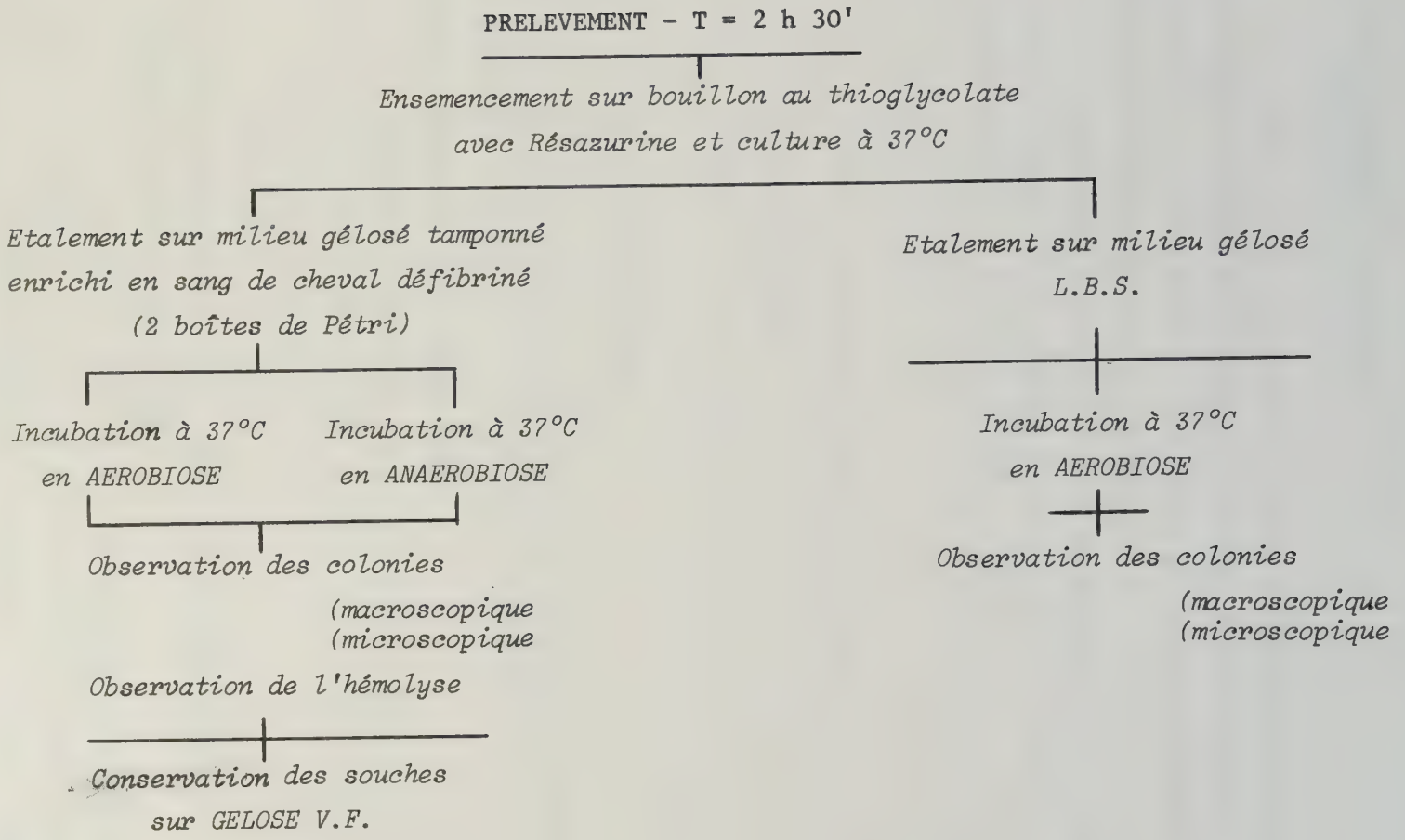


Tableau 1 - Protocole de l'isolement et de la conservation des bactéries fixées sur l'émail.

B - *PRELEVEMENTS SALIVAIRES.*

Dans le but de vérifier si nos techniques bactériologiques d'isolement étaient susceptibles d'assurer l'isolement de l'ensemble des bactéries du milieu buccal, nous avons appliqué ces mêmes techniques à l'analyse bactériologique de la salive.

Pour cela, des prélèvements salivaires ont été effectués chez 5 sujets au moyen d'une pipette Pasteur stérile et dans le voisinage de la dent concernée par le prélèvement dentaire.

Les opérations suivantes ont été réalisées sur ces échantillons.

1 - EXAMEN MICROSCOPIQUE DIRECT DE LA SALIVE.

- A l'état frais.
- Après coloration de Gram.

2 - CULTURE MICROBIENNE.

L'échantillon est ensemencé sur 3 milieux différents déjà employés pour la culture des prélèvements dentaires :

- deux milieux solides d'isolement :
  - . la gélose nutritive additionnée de 5 pour cent de sang de cheval défibriné utilisée en aérobiose et en anaérobiose,
  - . le milieu gélosé pour Lactobacilles, L.B.S. (B.B.L.) uniquement employé en aérobiose,
- un milieu d'enrichissement liquide au thioglycolate et résazurine (Difco) utilisé en aérobiose.

A partir de la culture sur le milieu au thioglycolate et résazurine, un isolement est effectué à 24 heures et à 48 heures sur les deux milieux solides précédemment utilisés ; ils sont incubés à 37°C dans les mêmes conditions.

3 - EXAMEN DES COLONIES BACTERIENNES APRES ISOLEMENT.

Les colonies isolées sur milieux solides à partir de l'ensemencement immédiat ou après culture de l'échantillon salivaire sur milieu liquide sont analysées :

- par une observation macroscopique,
- par un examen microscopique après coloration de Gram.

Bien qu'il s'agisse de techniques bactériologiques classiques et que les milieux employés permettent l'isolement des bactéries aérobies, anaérobies facultatives et anaérobies stricts, il est possible que pour les anaérobies stricts les plus exigents de la flore buccale nos techniques soient insuffisantes.

Néanmoins, en ce qui concerne les prélèvements dentaires il est vraisemblable qu'il n'y ait pas d'anaérobies stricts étant donné le siège du prélèvement et la brièveté du temps d'apparition des premiers germes fixés.

En effet, RITZ (88) au cours d'une étude sur les changements de population microbienne de la "plaque dentaire" a montré que les formes anaérobies n'apparaissaient que bien plus tardivement.

- III -
R E S U L T A T S

A - *PRELEVEMENTS DENTAIRES.*

Tous les résultats enregistrés proviennent des prélèvements dentaires effectués au temps minimum moyen de 2 h 30 minutes nécessaire à la primo-implantation des bactéries à la surface de l'émail dentaire cliniquement sain.

Dans les milieux d'enrichissement nous avons enregistré, dans tous les cas, la multiplication exclusive de cocci à caractère Gram positif. 47 souches de ces germes ont été identifiées à partir des 26 prélèvements dentaires.

Dans tous les cas, sauf un, ces cocci étaient groupés en chaînettes plus ou moins longues ou en diplocoques.

Comme de plus nous avons noté, chaque fois, l'absence de catalase (10), la négativité du test à l'optochine (10), l'absence de lyse dans une solution de taurocholate de soude à 10 pour cent (10) et la positivité des cultures sur bouillon glucosé et tamponné pour Streptocoques (18) ; il s'agissait donc de Streptocoques.

L'exception correspondait à des coques à Gram positif disposés en grappes, catalase positive, capables de se développer sur le milieu hyperchloruré de CHAPMAN en fermentant le mannitol, et de coaguler le plasma de lapin ; il s'agissait donc d'un Staphylocoque pathogène. Sa

présence était d'ailleurs en relation avec une amygdalite récente. Chez ce même sujet, outre le Staphylocoque, le prélèvement renfermait aussi une souche de Streptocoque.

Nous avons ensuite réalisé le groupage sérologique de ces Streptocoques selon la technique de LANCEFIELD (66), à partir de cultures sur bouillon glucosé et tamponné pour Streptocoques dont la composition est la suivante :

. extrait de viande Liebig	5
. peptone spéciale	10
. chlorure de sodium	2,5
. phosphate monopotassique	0,7
. phosphate disodique.....	8,3
. glucose R.A.L.	2
. eau	1 000 ml

pH = 7,6 - 7,8.

Les Streptocoques non groupables par la technique de LANCEFIELD ont été identifiés par l'aspect de leurs colonies sur milieu gélosé hypersaccharosé à 5 pour cent (18).

La technique d'identification des bactéries préalablement isolées et conservées selon les modalités du tableau 1, est exposée dans le tableau 2.

Dans les tableaux n° 3 à 14, sont indiqués pour chaque souche bactérienne isolée les caractères d'identification d'espèce.

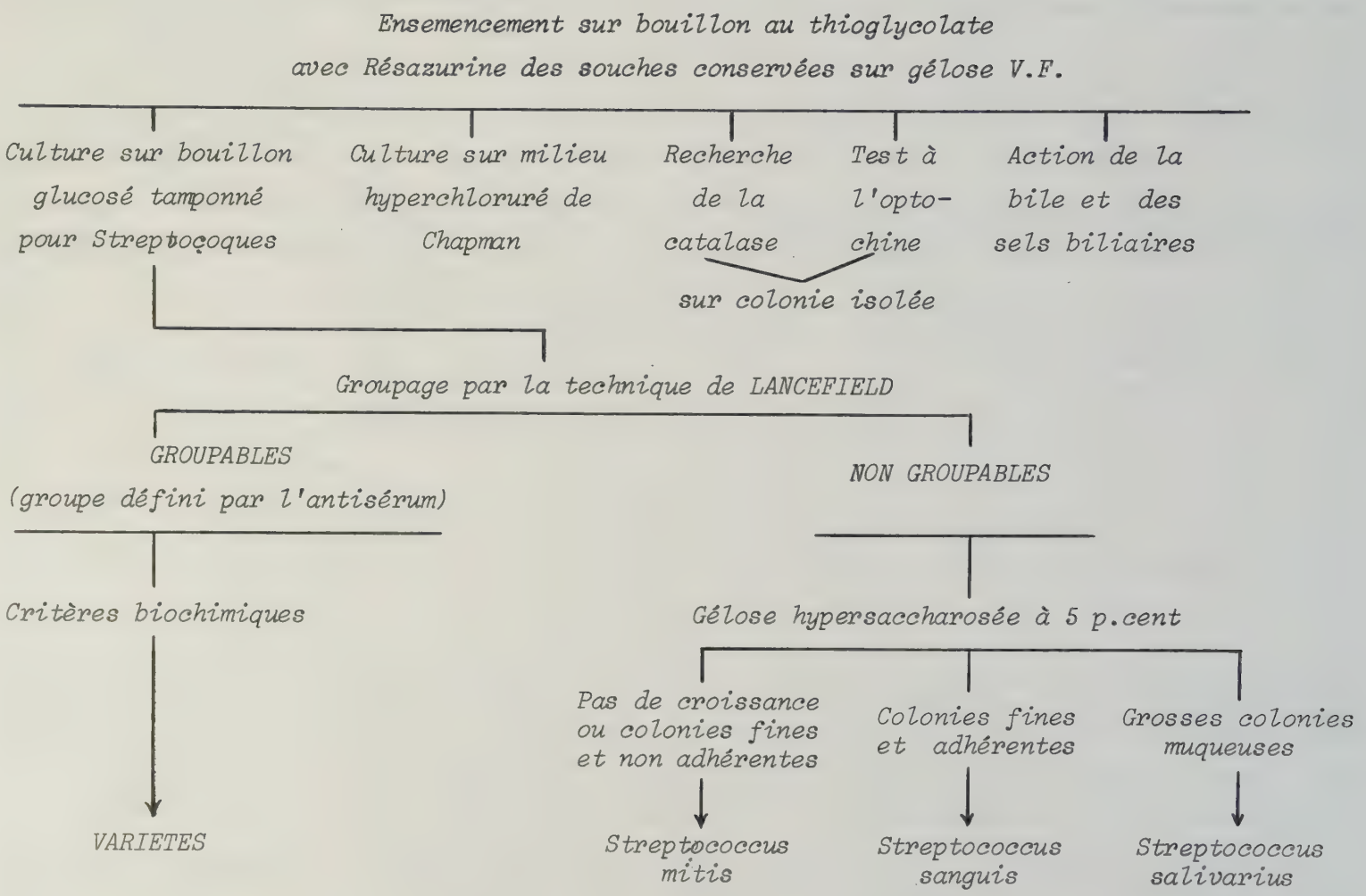


Tableau 2 - Protocole de l'identification des bactéries fixées sur l'émail, isolées et conservées selon les modalités du tableau 1.

Numéro des souches avant identification		*23*	*32*	*52*	*53*
Culture en aérobiose		+	+	+	+
Culture en anaérobiose		+	+	+	+
Hémolyse		γ	γ	γ	γ
Morphologie des colonies		Colonie moyenne, ronde, lisse, blanche.	Colonie moyenne, ronde, lisse, blanche.	Colonie moyenne, lisse, blanche.	Colonie moyenne, lisse, blanche.
Coloration de Gram		Cocci G + disposés le plus souvent en courtes chaînettes.	Cocci G + en chaînettes.	Cocci G + en courtes chaînettes.	Micrococci G + en courtes chaînettes.
Milieux et Tests différentiels	*Bouillon glucosé*	+	+	+	+
	Chapman	-	-	-	-
	Optochine	-	-	-	-
	Sels biliaires	-	-	-	-
G E N R E		*Streptococcus*	*Streptococcus*	*Streptococcus*	*Streptococcus*
Lancefield		-	-	-	-
Gélose hypersaccharosée		Grosses colonies en choux-fleurs adhérentes.	Fines colonies adhérentes.	Colonies moyennes, muqueuses, non adhérentes.	Très fines colonies non adhérentes.
Espèce identifiée		*Streptococcus salivarius*	*Streptococcus sanguis*	*Streptococcus salivarius*	*Streptococcus mitis*

Tableau 3

Numéro des souches avant identification		*62*	*71*	*72*	*81*
Culture en aérobiose		+	+	+	+
Culture en anaérobiose		+	+	+	+
Hémolyse		γ	γ	γ	α
Morphologie des colonies		Colonie moyenne, lisse, blanche.	Microcolonie en goutte de rosée, lisse.	Microcolonie en goutte de rosée, lisse.	Microcolonie en goutte de rosée, lisse.
Coloration de Gram		Cocci G+ en diplocoques et en chaînettes.	Cocci G+ en courtes chaînettes.	Cocci G+ en courtes chaînettes.	Cocci G+ en chaînettes.
Milieux et Tests différentiels	*Bouillon glucosé*	+	+	+	+
	Chapman	-	-	-	-
	Optochine	-	-	-	-
	Sels biliaires	-	-	-	-
G E N R E		*Streptocoçcus*	*Streptococcus*	*Streptococcus*	*Streptococcus*
Lancefield		-	-	-	+
Gélose hypersaccharosée		Grosses colonies muqueuses, crèmes, non adhérentes.	Fines colonies adhérentes.	Quelques très fines colonies. Pousse mal.	/
Espèce identifiée		*Streptococcus salivarius*	*Streptococcus sanguis*	*Streptococcus mitis*	*Streptococcus groupe K*

Tableau 4

Numéro des souches avant identification		*82*	*92*	*132*	*141*
Culture en aérobiose		+	+	+	+
Culture en anaérobiose		+	+	+	+
Hémolyse		α	γ	γ	γ
Morphologie des colonies		Colonie moyenne, lisse, blanche.	Colonie lenticulaire.	Colonie moyenne, lisse, blanche.	Petite colonie, lisse, blanche.
Coloration de Gram		Cocci G+ en chaînettes.	Cocci G+ en chaînettes.	Cocci G+ en chaînettes et en diplocoques.	Cocci G+ en chaînettes.
Milieux et Tests différentiels	*Bouillon glucosé*	+	+	+	+
	Chapman	-	-	-	-
	Optochine	-	-	-	-
	Sels biliaires	-	-	-	-
G E N R E		*Streptococcus*	*Streptococcus*	*Streptococcus*	*Streptococcus*
Lancefield		+	-	-	-
Gélose hypersaccharosée		/	Fines colonies adhérentes.	Grosses colonies muqueuses, non adhérentes.	Très fines colonies adhérentes.
Espèce identifiée		*Streptococcus Groupe K*	*Streptococcus sanguis*	*Streptococcus salivarius*	*Streptococcus sanguis*

Tableau 5

Numéro des souches avant identification		*151*	*152*	*161*	*171*
Culture en aérobiose		+	+	+	+
Culture en anaérobiose		+	+	+	+
Hémolyse		γ	γ	α	γ
Morphologie des colonies		Colonie moyenne, lisse, blanche.	Colonie moyenne, lisse, blanche.	Colonies punctiformes.	Microcolonies en grains de semoule.
Coloration de Gram		Cocci G+ en courtes chaînettes.	Cocci G+ en courtes chaînettes.	Cocci G+ en chaînettes.	Cocci G+ en chaînettes.
Milieux et Tests différentiels	*Bouillon glucosé*	+	+	+	+
	Chapman	-	-	-	-
	Optochine	-	-	-	-
	Sels biliaires	-	-	-	-
G E N R E		*Streptococcus*	*Streptococcus*	*Streptococcus*	*Streptococcus*
Lancefield		-	-	Fuller : +	-
Gélose hypersaccharosée		Grosses colonies muqueuses, non adhérentes.	Grosses colonies muqueuses, non adhérentes.	- Mannitol : + Sorbitol : - Lait tournesolé; acidifié, coagulé et réduit.	Colonies fines, adhérentes.
Espèce identifiée		*Streptococcus salivarius*	*Streptococcus salivarius*	*Streptococcus Groupe D Var. Faecium*	*Streptococcus sanguis*

Tableau 6

Numéro des souches avant identification		*172*	*181*	*182*	*221*
Culture en aérobiose		+	+	+	+
Culture en anaérobiose		+	+	+	+
Hémolyse		γ	γ	γ	γ
Morphologie des colonies		Microcolonie en grains de semoule	Microcolonie en grains de semoule.	Microcolonie en grains de semoule.	Petite colonie, lisse, transparentes.
Coloration de Gram		Cocci G+ en courtes chaînettes.	Cocci G+ en courtes chaînettes.	Cocci G+ en courtes chaînettes.	Cocci G+ en courtes chaînettes.
Milieux et Tests différentiels	*Bouillon glucosé*	+	+	+	+
	Chapman	-	-	-	-
	Optochine	-	-	-	-
	Sels biliaires	-	-	-	-
G E N R E		*Streptococcus*	*Streptococcus*	*Streptococcus*	*Streptococcus*
Lancefield		-	-	-	-
Gélose hypersaccharosée		Colonies très fines, non adhérentes. Aspect de voile en surface.	Colonies fines, adhérentes.	Colonies fines, non adhérentes. Aspect de voile en surface.	Microcolonies, non adhérentes. Pousse mal.
Espèce identifiée		*Streptococcus mitis*	*Streptococcus sanguis*	*Streptococcus mitis*	*Streptococcus mitis*

Tableau 7

Numéro des souches avant identification		222	251	252	257
Culture en aérobiose		+	+	+	+
Culture en anaérobiose		+	+	+	+
Hémolyse		γ	α	α β	α β
Morphologie des colonies		Colonie moyenne, lisse.	Microcolonie, lisse.	Microcolonie, lisse.	Microcolonie, lisse.
Coloration de Gram		Cocci G+ en chaînettes.	Cocci G+ en chaînettes.	Cocci G+ en chaînettes.	Cocci G+ en chaînettes.
Milieux et Tests différentiels	*Bouillon glucosé*	+	+	+	+
	Chapman	-	-	-	-
	Optochine	-	-	-	-
	Sels biliaires	-	-	-	-
G E N R E		*Streptococcus*	*Streptococcus*	*Streptococcus*	*Streptococcus*
Lancefield		-	-	+	+
Gélose hypersaccharosée		Microcolonies, non adhérentes. Pousse mal.	Colonies fines, adhérentes.	/	/
Espèce identifiée		*Streptococcus mitis*	*Streptococcus sanguis*	*Streptococcus Groupe H Var. sanguis*	*Streptococcus Groupe H Var. sanguis*

Tableau 8

Numéro des souches avant identification		261	271	281	291
Culture en aérobiose		+	+	+	+
Culture en anaérobiose		+	+	+	+
Hémolyse		α	γ	γ	γ
Morphologie des colonies		Microcolonie en goutte de rosée.	Microcolonie en goutte de rosée.	Microcolonie en goutte de rosée.	Microcolonie en goutte de rosée.
Coloration de Gram		Cocci G+ en courtes chaînettes.	Cocci G+ en courtes chaînettes.	Cocci G+ en courtes chaînettes.	Cocci G+ en courtes chaînettes.
Milieux et Tests différentiels	Bouillon glucosé	+	+	+	+
	Chapman	-	-	-	-
	Optochine	-	-	-	-
	Sels biliaires	-	-	-	-
G E N R E		Streptococcus	Streptococcus	Streptococcus	Streptococcus
Lancefield		-	-	-	-
Gélose hypersaccharosée		Microcolonies non adhérentes. Pousse mal.	Colonies muqueuses, confluentes, non adhérentes.	Grosses colonies muqueuses, non adhérentes.	Petites colonies, fines, transparentes, adhérentes.
Espèce identifiée		Streptococcus mitis	Streptococcus salivarius	Streptococcus salivarius	Streptococcus sanguis

Tableau 9

Numéro des souches avant identification		292	301	302	321
Culture en aérobiose		+	+	+	+
Culture en anaérobiose		+	+	+	+
Hémolyse		γ	β	β	α
Morphologie des colonies		Microcolonie en goutte de rosée.	Microcolonie en goutte de rosée.	Colonie en grain de semoule.	Petite colonie, lisse, blanche.
Coloration de Gram		Cocci G+ en chaînettes.	Cocci G+ en chaînettes.	Cocci G+ en chaînettes.	Cocci G+ en chaînettes.
Milieux et Tests différentiels	*Bouillon glucosé*	+	+	+	+
	Chapman	-	-	-	-
	Optochine	-	-	-	-
	Sels biliaires	-	-	-	-
G E N R E		*Streptococcus*	*Streptococcus*	*Streptococcus*	*Streptococcus*
Lancefield		-	+	+	-
Gélose hypersaccharosée		Petites colonies, fines, transparentes, adhérentes.	/	/	Petites colonies, fines, transparentes, adhérentes.
Espèce identifiée		*Streptococcus sanguis*	*Streptococcus Groupe H var. sanguis*	*Streptococcus Groupe H var. sanguis*	*Streptococcus sanguis*

Tableau 10

Numéro des souches avant identification		*322*	*331*	*332*	*351*
Culture en aérobiose		+	+	+	+
Culture en anaérobiose		+	+	+	+
Hémolyse		γ	γ	γ	γ
Morphologie des colonies		Petite colonie, lisse, blanche.	Microcolonie en goutte de rosée.	Microcolonie en goutte de rosée.	Colonie en goutte de rosée.
Coloration de Gram		Cocci G+ en courtes chaînettes.	Cocci G+ en chaînettes.	Cocci G+ en chaînettes.	Cocci G+ en courtes chaînettes.
Milieux et Tests différentiels	*Bouillon glucosé*	+	+	+	+
	Chapman	-	-	-	-
	Optochine	-	-	-	-
	Sels biliaires	-	-	-	-
G E N R E		*Streptococcus*	*Streptococcus*	*Streptococcus*	*Streptococcus*
Lancefield		-	-	-	-
Gélose hypersaccharosée		Petites colonies, fines, transparentes, adhérentes.	Colonies fines, non adhérentes. Pousse mal.	Colonies fines, non adhérentes. Pousse mal.	Très fines colonies, non adhérentes. Pousse mal.
Espèce identifiée		*Streptococcus sanguis*	*Streptococcus mitis*	*Streptococcus mitis*	*Streptococcus mitis*

Tableau 11

Numéro des souches avant identification		*352*	*361*	*362*	*363*
Culture en aérobiose		+	+	+	+
Culture en anaérobiose		+	+	+	+
Hémolyse		γ	γ	α	γ
Morphologie des colonies		Colonie moyenne, lisse, blanche.	Colonie moyenne, lisse, blanche.	Colonie en goutte de rosée.	Colonie moyenne, muqueuse, jaune.
Coloration de Gram		Cocci G+ en courtes chaînettes.	Cocci G+ en chaînettes.	Cocci G+ en courtes chaînettes.	Cocci G+ en amas.
Milieux et Tests différentiels	*Bouillon glucosé*	+	+	+	0
	Chapman	-	-	-	+ , mannitol +
	Optochine	-	-	-	-
	Sels biliaires	-	-	-	-
G E N R E		*Streptococcus*	*Streptococcus*	*Streptococcus*	*Staphylococcus*
Lancefield		-	-	-	0
Gélose hypersaccharosée		Très fines colonies, non adhérentes. Pousse mal.	Très fines colonies, non adhérentes.	Microcolonies non adhérentes.	0
Espèce identifiée		*Streptococcus mitis*	*Streptococcus mitis*	*Streptococcus mitis*	*Catalase +, Staphylocoagulase +*
					Staphylocoque pathogène

Tableau 12

Numéro des souches avant identification		*364*	*381*	*382*	*383*
Culture en aérobiose		+	+	+	+
Culture en anaérobiose		+	+	+	+
Hémolyse		γ	α	γ	γ
Morphologie des colonies		Colonie moyenne, muqueuse, jaune.	Colonie en goutte de rosée.	Petite colonie, lisse, blanche.	Microcolonie, lisse.
Coloration de Gram		Cocci G+ en amas.	Cocci G+ en chaînettes.	Cocci G+ en chaînettes.	Cocci G+ en très courtes chaînettes.
Milieuxet Tests différentiels	*Bouillon glucosé*	0	+	+	+
	Chapman	+ , mannitol +	-	-	-
	Optochine	-	-	-	-
	Sels biliaires	-	-	-	-
G E N R E		*Staphylococcus*	*Streptococcus*	*Streptococcus*	*Streptococcus*
Lancefield		0	-	-	-
Gélose hypersaccharosée		0	Très fines colonies, non adhérentes.	Très fines colonies, non adhérentes.	Très fines colonies, non adhérentes.
Espèce identifiée		*Catalase +, Staphylocoagulase +* *Staphylocoque pathogène*	*Streptococcus mitis*	*Streptococcus mitis*	*Streptococcus mitis*

Tableau 13

Numéro des souches avant identification		*391*	*392*	*393*	*394*
Culture en aérobiose		+	+	+	+
Culture en anaérobiose		+	+	+	+
Hémolyse		α	γ	γ	γ
Morphologie des colonies		Colonie moyenne, ronde, lisse.	Microcolonie, lisse.	Colonie moyenne, lisse.	Microcolonie, lisse, blanche.
Coloration de Gram		Cocci G+ en longues chaînes.	Cocci G+ en courtes chaînettes.	Cocci G+ en très longues chaînes.	Cocci G+ en courtes chaînes.
Milieux et Tests différentiels	*Bouillon glucosé*	+	+	+	+
	Chapman	-	-	-	-
	Optochine	-	-	-	-
	Sels biliaires	-	-	-	-
G E N R E		*Streptococcus*	*Streptococcus*	*Streptococcus*	*Streptococcus*
Lancefield		-	-	-	-
Gélose hypersaccharosée		Fines colonies, non adhérentes.	Fines colonies, non adhérentes.	Fines colonies, adhérentes.	Fines colonies, non adhérentes.
Espèce identifiée		*Streptococcus mitis*	*Streptococcus mitis*	*Streptococcus sanguis*	*Streptococcus mitis*

Tableau 14

Cette étude expérimentale nous a permis d'identifier :

1) *Des Streptocoques groupables* :

- du groupe D, variété faecium : 1 souche,
- du groupe H, variété sanguis : 4 souches,
- du groupe K, : 2 souches.

2) *Des Streptocoques non groupables* :

- mitis : 19 souches.
- sanguis : 12 souches.
- salivarius : 8 souches.

Les proportions relatives des différentes espèces de Streptocoques fixées sur l'émail dentaire 2 h 30 minutes après sa mise à nu sont représentées dans le tableau 15.

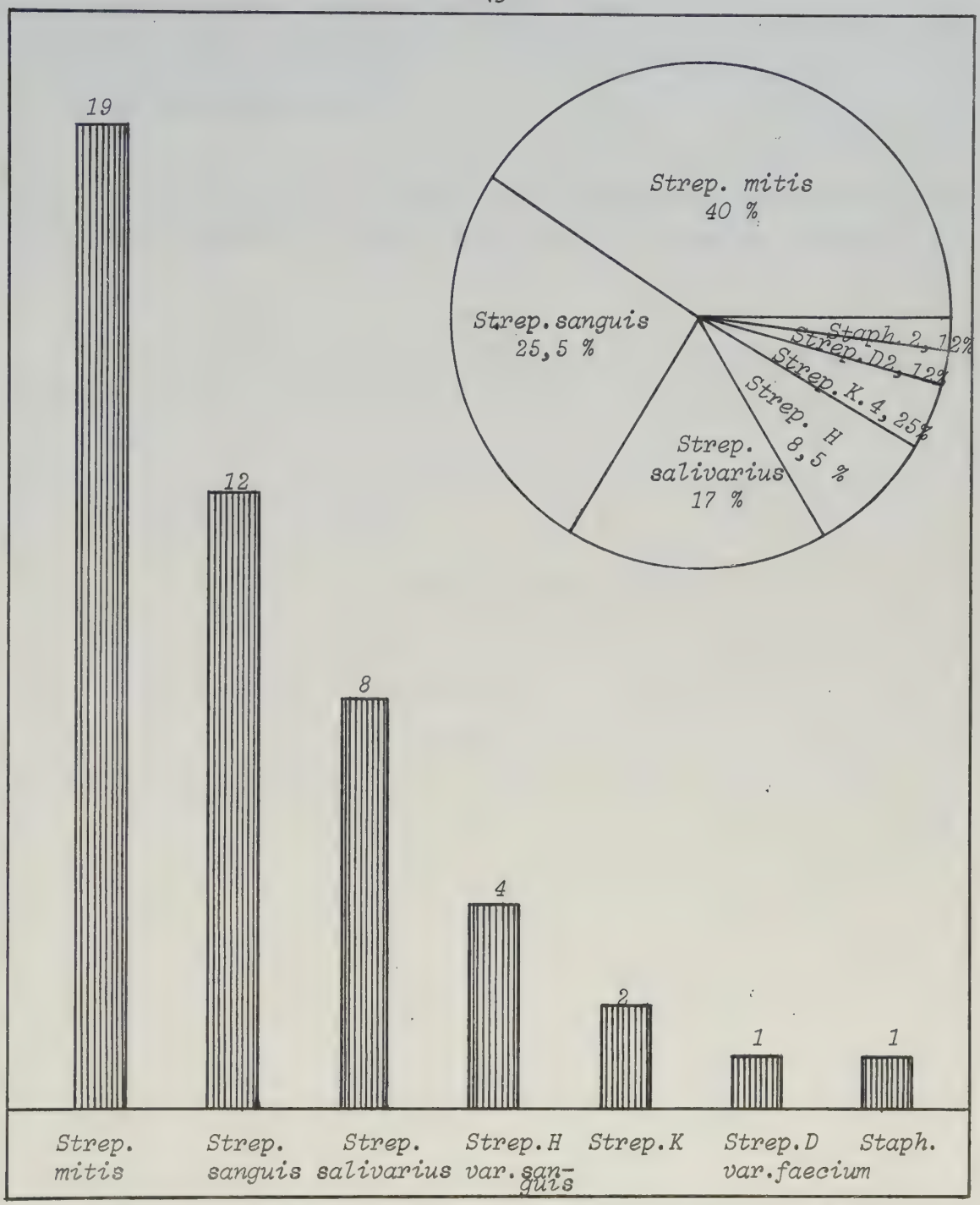


Tableau 15 - Proportions relatives des différentes espèces de Streptocoques fixées sur l'émail dentaire au temps t = 2 h 30 minutes.

3 - PRELEVEMENTS SALIVAIRES.

Les caractères culturaux et morphologiques des bactéries isolées des prélèvements de salive sont détaillés dans les tableaux n° 15 à 20.

Nous y trouvons des microorganismes à morphologie variée correspondant à autant de germes et d'espèces différents :

- des cocci à Gram positif disposés soit en amas, en chaînettes ou en diplocoques,
- des cocci à Gram négatif disposés en amas,
- des bâtonnets à Gram positif et à Gram négatif,
- des filaments à Gram variable,
- des levures à Gram positif,
- de rares vibrions.

N°de référence du prélèvement S_1		Culture en :		Morphologie des colonies	Coloration de Gram
		Aérobiose	anaérobiose		
Frottis direct					. Cocci G+ en amas et en chaînettes. . Microcoques G- en amas. . Bâtonnets G+. . Filaments G- ; quelques spirochètes.
Ensemencement immédiat	Gélose au sang		+	Colonie moyenne,ronde,lisse, jaune.	Cocci G- en amas.
		+	+	Microcolonie,ronde,lisse.	Cocci G+ en chaînettes.
		+		Colonie épaisse,large,lisse, jaune.	Levures.
		+		Grosse colonie,jaune,lisse, ronde.	Cocci G+ en amas.
	Milieu L.B.S.	+		Colonie épaisse, muqueuse, blanc grisâtre.	Bâtonnets G+ en diplobacilles et en chaînettes parfois assez longues.
Ensemencement après culture sur Thioglycolate avec Résazurine	Gélose au sang		+	Colonie moyenne,ronde,lisse, jaune.	Cocci G- en amas.
		+	+	Microcolonie,ronde,lisse.	Cocci G+ en chaînettes.
		+		Colonie épaisse,large,lisse, jaune.	Levures.
		+		Grosse colonie,jaune,lisse, ronde.	Cocci G+ en amas.
		+		Colonie moyenne,ronde,lisse.	Filaments G- assez longs.
	Milieu L.B.S.	+		Colonie épaisse, muqueuse, blanc grisâtre.	Bâtonnets G+ groupés en diplobacilles et en chaînettes parfois assez longues.

Tableau 16 - Caractères morphologiques des bactéries contenues dans le prélèvement salivaire S_1.

N°de référence du prélèvement S_2		Culture en : Aérobiose	Culture en : Anaérobiose	Morphologie des colonies	Coloration de Gram
Frottis direct					. Cocci G+ en chaînettes. . Bâtonnets G+ . Cocci G+ et G- en amas. . Filaments G-
Ensemencement immédiat	Gélose au sang	+	+	Grosse colonie,blanchâtre,muqueuse.	Cocci G+ en amas.
		+		Petite colonie à bords irréguliers et d'aspect granuleux.	Diplocoques G+ en courtes chaînettes.
		+	+	Petite colonie,lisse,ronde,transparente.	Cocci G+ en courtes chaînettes.
			+	Colonie moyenne, granuleuse.	Microcoques G- en amas.
		+	+	Petite colonie,ronde,transparente.	Microcoques G+ en amas.
	Milieu L.B.S.	+		Colonie épaisse, muqueuse, blanc grisâtre.	Bâtonnets G+ groupés en paquets et en courtes chaînettes.
Ensemencement après culture sur Thioglycolate avec Résazurine	Gélose au sang	+	+	Grosse colonie,blanchâtre,muqueuse.	Cocci G+ en amas.
		+	+	Colonie moyenne,lisse,transparente.	Cocci G+ en chaînettes.
			+	Colonie moyenne,granuleuse.	Microcoques G- en amas.
		+	+	Petite colonie, lisse.	Bâtonnets G+
		+		Colonie moyenne,ronde,lisse.	Filaments G-
	Milieu L.B.S.	+		Colonie épaisse, muqueuse, blanc grisâtre.	Bâtonnets G+ groupés en paquets et en courtes chaînettes.

Tableau 17 - Caractères morphologiques des bactéries contenues dans le prélèvement salivaire S_2.

N°de référence du prélèvement S_3		Culture en : Aérobiose	Culture en : Anaérobiose	Morphologie des colonies	Coloration de Gram
Frottis direct					. Cocci G+ en chaînettes et en amas. . Cocci G- en amas. . Filaments G-. . Spirochètes.
Ensemencement immédiat	Gélose au sang	+	+	Grosse colonie, muqueuse, jaune.	Cocci G+ en amas.
		+	+	Petite colonie, lisse, ronde.	Cocci G- en amas réguliers.
		+	+	Colonie moyenne, ronde, lisse.	Cocci G+ en chaînettes.
			+	Microcolonie, ronde, lisse.	Cocci G- en tétrades.
	Milieu L.B.S.	+		Colonie épaisse, muqueuse, blanc grisâtre.	Bâtonnets G+ en très courtes chaînes.
Ensemencement après culture sur Thioglycolate avec Résazurine	Gélose au sang	+	+	Colonie moyenne, ronde, lisse.	Cocci G+ en amas.
		+	+	Colonie moyenne, ronde, lisse.	Cocci G- en amas.
		+		Colonie moyenne, ronde, lisse.	Filaments G-.
	Milieu L.B.S.	+		Colonie épaisse, muqueuse, blanc grisâtre.	Bâtonnets G+ en très courtes chaînes.

Tableau 18 - Caractères morphologiques des bactéries contenues dans le prélèvement salivaire S_3.

N°de référence du prélèvement S_4		Culture en :		Morphologie des colonies	Coloration de Gram
		Aérobiose	Anaérobiose		
Frottis direct					. Cocci en chaînettes G+ . Cocci en amas G- . Bâtonnets G+ . Filaments G-
Ensemencement immédiat	Gélose au sang	+	+	Grosse colonie,muqueuse,à bords irréguliers.	Cocci G+ en amas.
		+	+	Microcolonie, transparente.	Cocci G+ en chaînettes.
		+		Petite colonie, d'aspect granuleux, à bords irréguliers.	Bâtonnets G+ en amas.
	Milieu L.B.S.	+		Colonie épaisse, muqueuse, blanc grisâtre.	Bâtonnets G+ en paquets et en chaînettes parfois longues.
Ensemencement après culture sur Thioglycolate avec Résazurine	Gélose au sang	+	+	Grosse colonie, épaisse, lisse.	Cocci G+ en amas.
		+	+	Petite colonie, en goutte de rosée, transparente.	Cocci G+ en chaînettes.
		+		Colonie épaisse à surface lisse.	Micrococci G- en amas.
		+	+	Petite colonie, fine, lisse.	Bâtonnets G+.
		+		Grosse colonie,épaisse,convexe,jaunâtre,formant une cloque.	Formes cocobacillaires à Gram variable ,disposées en amas.
	Milieu L.B.S.	+		Colonie épaisse, muqueuse, blanc grisâtre.	Bâtonnets G+ en paquets et en chaînettes parfois longues.

Tableau 19 - Caractères morphologiques des bactéries contenues dans le prélèvement salivaire S_4.

N° de référence du prélèvement S_5		Culture en :		Morphologie des colonies	Coloration de Gram
		Aérobiose	Anaérobiose		
Frottis direct					. Cocci G+ en diplocoques et en chaînettes. . Cocci G- en amas. . Bâtonnets G+. . Filaments G-.
Ensemencement immédiat	Gélose au sang	+	+	Petite colonie, parfois s'étalant en surface.	Cocci G- en amas.
		+	+	Grosse colonie, muqueuse, épaisse.	Cocci G+ en amas.
		+	+	Colonie fine, pâle, transparente.	Cocci G+ en chaînettes.
			+	Microcolonie, à surface rugueuse.	Micrococci G-.
			+	Grosse colonie, opaque, plicaturée en surface.	Bâtonnets G+ ,
		+		Colonie verdâtre.	Bâtonnets G-.
	Milieu L.B.S	+		Colonie épaisse, muqueuse, brillante.	Bâtonnets G+ en chaînes parfois longues.
Ensemencement après culture sur Thioglycolate avec Résazurine	Gélose au sang	+	+	Petite colonie, s'étalant en surface.	Cocci G- en amas.
		+	+	Grosse colonie, muqueuse, jaunâtre.	Cocci G+ en amas.
		+	+	Colonie fine, punctiforme, opalescente	Micrococci G- en amas.
		+	+	Colonie fine, pâle, transparente.	Cocci G+ en chaînettes.
		+	+	Colonie moyenne, à bords irréguliers.	Bâtonnets G+ en paquets.
	Milieu L.B.S	+		Colonie épaisse, muqueuse, brillante.	Bâtonnets G+ en chaînes parfois longues.

Tableau 20 - Caractères morphologiques des bactéries contenues dans le prélèvement salivaire S_5.

- IV -
DISCUSSION ET CONCLUSION

Cette étude expérimentale permet de faire les constatations suivantes :

1) L'implantation des bactéries à la surface de l'émail dentaire cliniquement sain est très précoce puisque, après décapage et asepsie de la zone de prélèvement, il ne faut pas plus de 2 h 30 minutes pour que des germes soient déjà fixés à ce niveau.

2) En dépit du fait que le milieu buccal et tout particulièrement la salive, comme nous avons pu le vérifier, héberge une flore microbienne nombreuse et variée, ce sont des Streptocoques qui sont dans la très grande majorité des cas les germes de primo-implantation sur l'émail dentaire.

3) En outre, notre expérimentation met en évidence que les Streptocoques dépourvus d'antigènes de groupe prédominent puisqu'ils représentent 82,5 pour cent de la flore Streptococcique totale. De plus, au sein de ces Streptocoques non groupables, Streptococcus mitis est numériquement le plus important (49 pour cent), par rapport à Streptococcus sanguis (32 pour cent) et Streptococcus salivarius (19 pour cent).

Ces résultats, dans leur ensemble, confirment en les précisant ceux obtenus par d'autres auteurs qui ont étudié la colonisation microbienne de la surface dentaire tant par des techniques ultramicroscopiques que bactériologiques.

Ainsi nos résultats concordent avec la description de "formes coccoïdes" rencontrées précocement fixées à l'émail dentaire par CRITCHLEY et SAXTON (19, 20), mais ils précisent l'identification de ces bactéries.

Nous confirmons aussi les résultats obtenus par RITZ (89, 90), CARLSSON (16), VAN HOUTE, GIBBONS, BANGHART (112) sur la présence du Streptocoque comme germe de primo-implantation, mais nous trouvons certaines différences, d'une part, dans la fréquence des espèces isolées et, d'autre part, dans le temps nécessaire à la fixation de ces premiers germes.

En effet, RITZ (89, 90) trouve, en plus des Streptocoques, des Neisseriae et Nocardia mais à partir de prélèvements effectués après 24 heures sur les faces vestibulaires des incisives centrales supérieures et inférieures.

CARLSSON (16), employant une technique différente de la nôtre, met en évidence uniquement des Streptocoques mais les pourcentages des espèces ou variétés sont différents de ceux que nous avons trouvés; le groupe I, sanguis (77 pour cent), prédomine par rapport au groupe II, mutans (3 pour cent) et au groupe III, salivarius (2 pour cent).

Dans une étude très récente, VAN HOUTE, GIBBONS, BANGHART (112) isolent des souches de Streptococcus sanguis (54 pour cent) et de Streptococcus salivarius (4 pour cent) pour des temps de prélèvements très proches de notre temps minimum moyen d'implantation bactérienne mais dans des sites et par des techniques de culture différents.

En comparant les pourcentages trouvés par ces derniers auteurs à ceux résultant de nos travaux, nous constatons qu'ils diffèrent assez sensiblement en ce qui concerne les Streptocoques non groupables. En

effet, selon nos résultats ils représentent 82,5 pour cent de la flore Streptococcique totale et se décomposent en Streptococcus mitis (40 pour cent), Streptococcus sanguis (25,5 pour cent) et Streptococcus salivarius (17 pour cent).

Malgré ces différences, il est remarquable de constater que ce sont toujours des Streptocoques qui se fixent en priorité sur la surface d'une dent cliniquement saine alors que la population ambiante est polymicrobienne.

Une tentative d'explication de ce phénomène a été faite par SCHROEDER et DE BOEVER (101). Ces auteurs rattachent cette primo-implantation Streptococcique sur l'émail au fait que les Streptocoques sont les germes les plus nombreux dans la cavité buccale.

Cette raison ne semble pas être suffisante pour expliquer l'implantation précoce et élective des Streptocoques à la surface de l'émail dentaire. Les causes de ce phénomène nous semblent plutôt devoir être cherchées dans les relations pouvant exister entre les Streptocoques et la surface dentaire.

R E C H E R C H E S P E R S O N N E L L E S

D E U X I E M E P A R T I E

Recherche d'un rôle biologique de l'émail dans la fixation initiale des bactéries à la surface de la dent

I N T R O D U C T I O N

Une étude expérimentale antérieure nous a permis de constater "in vivo" que les premiers germes qui se fixent à la surface de l'émail dentaire cliniquement sain sont dans la grande majorité des cas des Streptocoques et principalement des Streptocoques dépourvus d'antigènes de groupe (21, 22).

Nous nous proposons maintenant de chercher à déterminer si l'émail est responsable biologiquement, par sa nature chimique, de cette implantation Streptococcique initiale.

Il s'agit tout d'abord de savoir si l'implantation initiale de ces bactéries se fait directement sur l'émail ou bien par l'intermédiaire de la "pellicule acquise", ce film protéinique d'origine salivaire qui se dépose sur l'émail et sert de support par la suite à une flore microbienne variée.

Dans ce dernier cas, l'implantation initiale des Streptocoques sur la dent pourrait dépendre davantage de la "pellicule acquise" que de l'émail.

En revanche, un rôle actif de l'émail serait plus manifeste dans le cas où les bactéries s'accolent directement à lui.

Les résultats des recherches réalisées jusqu'à ce jour sur ce point sont en faveur soit de l'une, soit de l'autre de ces possibilités.

FRANK et BRENDEL (32) mettent en évidence l'accolement direct des bactéries à l'émail.

Les travaux de Mc GAUGHEY et FIELD (75), en 1969, vont dans le même sens ; ces auteurs constatent au cours d'expériences réalisées "in vitro" que "Streptococcus mutans" adhère plus fortement à la poudre d'émail seule qu'à la poudre d'émail mélangée à la salive.

En revanche, HILLMAN, VAN HOUTE et GIBBONS (55) observent une adhérence plus forte des bactéries à la poudre d'émail dans le cas où elle est mélangée à de la salive.

Enfin, VAN HOUTE, GIBBONS et BANGHART (112), en 1970, mettent en évidence des différences d'adhérence à l'émail en présence de salive selon l'espèce de Streptocoque en cause.

Ils constatent que la proportion de "Streptococcus sanguis" est augmentée en présence des polymères salivaires alors que pour "Streptococcus salivarius" le phénomène est inverse.

Les résultats de toutes ces recherches sont donc souvent contradictoires.

Dès l'abord, le problème de la fixation des bactéries sur l'émail paraît être un phénomène complexe.

Pour notre part, nous avons abordé ce problème en supposant l'existence de relations biologiques intimes entre bactéries et émail au cours desquelles l'émail interviendrait dans le métabolisme bactérien au même titre qu'un facteur nutritif.

Cette hypothèse est étayée sur les arguments suivants :

1 - La composition chimique de l'émail n'est pas incompatible avec cette hypothèse. En effet, l'émail renferme à la fois des matières organiques et minérales.

- *Composition chimique de l'émail :*

Il est constitué d'une fraction minérale (96 pour cent), d'une fraction organique (1,7 pour cent) et d'eau (2,3 pour cent) (87).

L'hydroxylapatite $_3|(PO_4)_2\ Ca_3|\ Ca(OH)_2$ et le phosphate tricalcique hydraté $_3|(PO_4)_2\ Ca_3|\ 2\ H_2O$ sont les constituants les plus abondants

de la fraction minérale. Il existe également, en quantité faible mais non négligeable, des carbonates tels que le carbonate de magnésium, des chlorures, fluorures et sulfates de potassium et de sodium (87, 121).

La fraction organique est constituée d'une partie protidique insoluble (30 pour cent) et de mucopolysaccharides, collagènes, peptides et lipides (70 pour cent). La portion protéinique totale, de loin la plus importante, contient de très nombreux acides aminés (113).

Cette fraction organique possède une infrastructure fibrillaire qui se densifie au niveau de la gaine des prismes ; elle existe dans toute l'épaisseur de l'émail et sert de support à la trame minérale.

2 - Les résultats de différents travaux sont en faveur d'un phénomène de dégradation de l'émail par les bactéries.

En 1966, DREIZEN, SPIRAKIS et STONE (25) ont déjà montré que certaines souches bactériennes isolées de la salive (Streptococcus salivarius, Streptococcus mitis et Aerobacter aerogenes et de dents cariées (Alcaligenes faecalis, Alcaligenes metalcaligenes, Bacillus subtilis, Bacillus megaterium et Pseudomonas aeruginosa) peuvent survivre dans des suspensions aqueuses autoclavées de poudre de dents humaines (émail et dentine). Or, au cours de cette expérimentation la poudre de dents introduite dans le milieu subit une perte de poids. Il y a donc corrélation entre la survie bactérienne et la disparition d'une partie de la poudre de dents.

Mais, cette survie bactérienne dépend-elle de la dentine ou de l'émail ?

S'il est vrai que par sa constitution chimique l'émail détermine la fixation précoce des Streptocoques à son niveau, une perte de substance doit se produire à la surface de ce tissu et déclencher le processus carieux.

Bien que jusqu'ici, de nombreuses théories (33, 45, 81, 82, 86, 97, 98, 105, 114) aient été émises sur le processus carieux, on ne connaît pas encore de façon précise la phase initiale de l'altération de l'émail par les bactéries.

Cependant, en 1966, dans des observations au microscope électronique et au stéréomicroscope de surfaces proximales d'émail considéré comme non carié, FRANK et BRENDEL (32) notent déjà des destructions superficielles et localisées des cristaux d'apatite, de 0,4 à 0,5 µ de profondeur. Au contact intime de ces lésions, ils observent de très nombreuses bactéries.

Ces auteurs considèrent que ces microlésions représentent un des premiers stades du processus carieux.

Sont-elles la conséquence ou bien la cause de la présence de bactéries ?

Les travaux récents de GUILLO et BARREAU (50) laissent entrevoir que le processus carieux est, dès l'origine, consécutif à une action nécrosante des Streptocoques sur l'émail.

En effet, dans une étude de ce processus carieux par immunofluorescence chez le rat Wistar germ free monocontaminé par la souche de Streptocoque BHT 51 et alimenté suivant le régime 580 de STEPHAN, ces auteurs montrent que la fixation de ce germe apparaît 20 heures après l'inoculation à l'animal surla paroi ou au fond d'un sillon occlusal de molaire.

Au bout de 9 jours, ils observent d'une part, des infiltrations de Streptocoques dans de nombreuses fissures de l'émail et, d'autre part, des caries révélées par le réactif de Schiff.

Ce n'est qu'au bout de 21 jours qu'apparaîssent des lésions cliniquement observables.

Cependant, la progression de ces lésions initiales de l'émail, observable dans des conditions expérimentales particulières, peut fort bien souvent ne pas se manifester normalement tant il est vrai qu'actuel-

lement on envisage, au stade des microlésions, la possibilité d'une reminéralisation et d'une réparation de la surface dentaire altérée (61).

Quoiqu'il en soit, le fait que :

- d'une part, nous ayons pu démontrer une fixation précoce et élective des Streptocoques à la surface de la dent (21, 22) ;
- d'autre part, FRANK et BRENDEL (32) observent la présence de telles bactéries au contact même des lésions intimes et superficielles de l'émail ;
- enfin, GUILLO et BARREAU (50) démontrent "in vitro" la pénétration rapide d'une souche de ces germes dans les fissures de l'émail ;

nous a permis de nous interroger sur le rôle nutritionnel éventuel de l'émail sur certaines bactéries.

E T U D E E X P E R I M E N T A L E

Toute notre expérimentation a été réalisée "in vitro" avec de l'émail dentaire seul, en l'absence de salive.

Elle comporte deux séries d'expériences :

I - Action de l'émail sur la croissance bactérienne en milieu gélosé nutritif.

II - Action de la poudre d'émail sur le comportement bactérien en milieu gélosé inerte.

-:-

I - ACTION DE L'EMAIL SUR LA CROISSANCE BACTERIENNE EN MILIEU GELOSE NUTRITIF.

A - PROTOCOLE EXPERIMENTAL.

1 - Les souches bactériennes.

a - Origine :

Ce sont les souches de Streptocoques non groupables isolées dans la première partie de ce travail, à partir des prélèvements dentaires effectués 2 h 30 minutes après l'élimination de toutes les bactéries de la surface de l'émail ; il s'agit de :

- Streptococcus mitis,
- Streptococcus sanguis,
- Streptococcus salivarius.

b - Entretien et culture des souches bactériennes :

Les souches de Streptocoques sont conservées dans des tubes de gélose V.F. placés dans un réfrigérateur réglé à + 4°C.

Après passage sur bouillon glucosé tamponné, un repiquage est effectué tous les deux mois.

En vue de son étalement chaque souche, conservée suivant la méthode précédente, est ensemencée dans 5 ml d'un milieu d'enrichissement liquide au thioglycolate et résazurine (Difco).

La culture est incubée à 37°C pendant 24 heures.

2 - *Les matériaux dentaires.*

a - Les fragments de dents :

Ils sont obtenus par découpage, au moyen d'un disque diamanté monté sur turbine à air comprimé, de la face vestibulaire de prémolaires saines extraites pour des raisons orthopédiques.

Ces fragments ont une forme grossièrement rectangulaire d'environ 4 mm x 2 mm sur une épaisseur moyenne de 2 mm.

Ils sont placés dans 5 ml d'eau bidistillée et stérilisés par autoclavage à 120°C sous une pression de 1 at. pendant 30 minutes.

b - La poudre d'émail :

Elle est obtenue par abrasion de la couronne de dents saines, fraîchement extraites et conservées dans de l'eau oxygénée à 10 volumes, au moyen d'une fraise diamantée cylindrique montée sur turbine à air comprimé.

Cette abrasion très superficielle est réalisée par touches successives sous un spray d'eau pour assurer un refroidissement permanent.

L'émail ainsi pulvérisé est recueilli dans une boîte de Pétri et placé pendant 24 heures à l'étuve à 37°C pour évaporation de l'eau de refroidissement.

La stérilisation s'effectue, à basse température, sur le mode de la tyndallisation. Pour cela, la boîte de Pétri contenant une très fine couche de poudre d'émail est placée dans un système de refroidissement par eau, à une distance de 18 cm d'une lampe à U.V. de type : NR 11865/93, NR : L 177 109 (P = 500 W.).

Elle est soumise à quatre expositions de 10 minutes, chacune espacée de 10 minutes. Au cours de chaque exposition, la poudre est agitée quatre fois.

Un contrôle régulier de l'élévation thermique nous a permis de constater un maximum à 48° C.

3 - *Le milieu gélosé nutritif.*

Pour un litre d'eau distillée, il renferme :

- polypeptone ..... 5 g
- extrait de viande de boeuf ..... 3 g
- chlorure de sodium ..... 8 g
- gélose ..... 15 g

Le milieu est réparti dans des flacons de 60 ml et stérilisé par autoclavage à 120°C pendant 30 minutes.

Il est coulé en boîte de Pétri au moment de l'emploi.

4 - *Mise en contact des bactéries avec un fragment de dents en milieu gélosé nutritif.*

Les fragments de dents antérieurement préparés sont inclus dans une gélose nutritive ordinaire, coulée en boîte de Pétri, et de telle sorte que la portion d'émail vestibulaire affleure la surface de la gélose.

On réalise ensuite un étalement bactérien sur toute la surface du support nutritif gélosé et les ensemencements sont placés à l'étuve à 37°C pendant 24 heures.

5 - *Mise en contact des bactéries avec la poudre d'émail sur milieu gélosé nutritif.*

La technique diffère sensiblement du cas précédent car on réalise d'abord un étalement bactérien à la surface de la gélose nutritive et la poudre d'émail est ensuite déposée, en petits tas, au centre de la boîte de Pétri au moyen d'une spatule coudée stérilisée extemporanément à la flamme.

B - RESULTATS ET CONCLUSION.

Dans tous les cas, qu'il s'agisse de fragments de dents ou de poudre d'émail, nous avons observé que, sur le milieu nutritif, le nombre et la taille des colonies microbiennes sont tout à fait comparables au contact même de l'émail et en dehors de son contact.

Par conséquent, l'absence d'une augmentation de développement bactérien au contact de l'émail permet de conclure que, dans les conditions expérimentales envisagées, cet émail n'a pas de pouvoir stimulant sur la croissance des souches de Streptocoques expérimentées.

-:-

II - ACTION DE LA POUDRE D'EMAIL SUR LE COMPORTEMENT BACTERIEN EN MILIEU GELOSE INERTE.

Le fait que l'émail ne constitue pas un facteur stimulant pour la croissance des Streptocoques, "in vitro", nous a incités à rechercher dans une deuxième expérimentation s'il pouvait être un facteur de survie à l'égard de ces mêmes germes et vis à vis d'autres souches bactériennes.

Pour ce faire, il nous a fallu éliminer du milieu tout substrat nutritif organique et minéral, en dehors de l'émail, et utiliser un milieu inerte.

A - PROTOCOLE EXPERIMENTAL.

1 - Les souches bactériennes.

Ce sont d'abord les souches de Streptocoques non groupables déjà employées dans la première expérience.

D'autre part, nous avons étudié le comportement de quatre souches bactériennes, choisies arbitrairement, mais susceptibles d'habiter la cavité buccale comme hôtes habituels ou transitoires. Ce sont :

- une souche de Lactobacille isolée sur milieu L.B.S. (B.B.L.) à partir d'un prélèvement salivaire et conservée, sur ce même milieu, dans un réfrigérateur réglé à + 4°C ;
- trois souches provenant du souchier du laboratoire de Microbiologie pharmaceutique :

. une souche de Staphylocoque,

. une souche de Bacille pyocyanique,

. une souche de Colibacille.

Ces dernières souches sont conservées sur gélose tryptose à la température ambiante et repiquées tous les mois.

2 - Préparation des souches en vue de leur étalement sur milieu inerte.

Chaque souche, conservée suivant les méthodes antérieurement décrites, est ensemencée dans 5 ml d'un milieu d'enrichissement liquide au thioglycolate et résazurine (Difco) et incubée à 37°C pendant 24 heures.

Dans un deuxième temps, les bactéries sont récupérées par centrifugation et subissent trois lavages dans de l'eau bidistillée stérile.

Le troisième lavage est suivi de la récupération par centrifugation du culot bactérien puis les bactéries sont remises en suspension dans de l'eau bidistillée stérile. Cette suspension bactérienne sert à ensemencer le milieu gélosé inerte.

La vitalité bactérienne est controlée par ensemencement d'une goutte de la suspension dans un bouillon de culture.

3 - Préparation de la poudre d'émail.

La poudre d'émail est obtenue par une technique identique à celle décrite dans la première expérience.

Nous avons employé deux procédés distincts de stérilisation : l'un à basse température pour l'émail normal, l'autre à haute température pour l'émail calciné, afin de conserver ou de détruire la faible portion organique de l'émail.

Ainsi, l'émail normal est stérilisé, à basse température,selon

les modalités décrites dans la première expérience .

Par contre, pour obtenir un émail calciné, nous plaçons l'émail aussitôt sa pulvérisation dans une cupule en Platine qui est portée à 900°C pendant une heure dans un four à céramique.

Chaque variété de poudre est utilisée immédiatement après sa stérilisation.

4 - Le milieu inerte.

Il est constitué par un gel à 1 pour cent d'agar agar dans de l'eau bidistillée.

Ce milieu amené soit à pH = 7, soit à pH = 4,5 par addition d'acide acétique est réparti dans des flacons et est autoclavé à 120°C pendant 30 minutes.

5 - Mise en contact des germes avec la poudre d'émail sur les milieux inertes.

Les milieux gélosés inertes sont coulés en boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre à raison de 15 ml par boîte ; cette quantité est nécessaire pour éviter la dessication de la gélose par un séjour prolongé à l'étuve. Les boîtes ainsi préparées sont séchées à l'étuve à 37°C pendant 12 heures.

Une goutte de la suspension des bactéries lavées est étalée sur toute la surface de ces milieux inertes ; ils sont replacés à l'étuve à 37°C pendant 30 minutes pour évaporation de la phase liquide de la suspension.

La poudre d'émail est alors déposée, en petits tas, au centre de la boîte comme dans la première expérience.

Chaque souche bactérienne étudiée est mise en contact d'une part avec une poudre d'émail normal et, d'autre part, avec une poudre d'émail calciné.

Les préparations sont incubées à 37°C en aérobiose.

Les milieux gélosés inertes employés sont toujours à pH = 7, sauf dans le cas du Lactobacille où le pH est abaissé à 4,5.

6 - *Appréciation du critère de vitalité des germes en fonction du temps.*

On prélève chaque jour en surface et sur la même boîte, d'une part un fragment de milieu inerte éloigné de la poudre, et, d'autre part, un fragment identique au contact même de la poudre d'émail.

Les deux fragments sont ensemencés dans 5 ml du milieu au thioglycolate et résazurine (Difco) afin de s'assurer si chacun des deux prélèvements renfermait des germes vivants.

Pour ce faire, après 72 heures d'incubation à 37°C, on note la positivité ou la négativité de ces sub-cultures en milieu liquide.

Dans les sub-cultures positives une étude morphologique des germes est effectuée.

B - RESULTATS.

Dans aucun cas, la mise en contact sur les milieux inertes des germes avec la poudre d'émail normal ou calciné ne nous a permis d'observer le développement de colonies visibles.

Le seul élément d'appréciation de la vitalité des germes a donc été la positivité des sub-cultures.

Ainsi nous avons enregistré, pour chaque souche bactérienne mise en expérience, la positivité ou la négativité des sub-cultures réalisées sur milieu nutritif au thioglycolate et résazurine à partir :

- d'une part, des bactéries en contact avec le milieu inerte seul (témoin) ;
- d'autre part, des mêmes bactéries en contact avec la poudre d'émail normal ou calciné.

Les résultats de cette expérimentation sont groupés dans les tableaux 21 à 32. Dans ces tableaux, les lettres A, B, C, D.... correspondent aux différents prélèvements bactériens, points de départ des sub-cultures.

Tableau 21 - Résultats des sub-cultures en milieu nutritif de STREPTOCOCCUS MITIS en fonction du temps de passage de cette bactérie sur milieu inerte seul ou additionné de poudre d'émail normal.

MILIEU INERTE

1 - Temps de passage de la souche sur milieu inerte.

2 - Prélèvements de la souche sur milieu inerte.

3 - Résultats des sub-cultures de ces prélèvements depuis 72 heures en milieu nutritif.

4 - Morphologie des bactéries dans les sub-cultures positives.

MILIEU INERTE + POUDRE D'EMAIL

5 - Temps de passage de la souche sur milieu inerte + poudre d'émail.

6 - Prélèvements de la souche sur milieu inerte + poudre d'émail.

7 - Résultats des sub-cultures de ces prélèvements depuis 72 heures en milieu nutritif.

8 - Morphologie des bactéries dans les sub-cultures positives.

POUDRE D'EMAIL NORMAL

MILIEU INERTE				MILIEU INERTE + POUDRE D'EMAIL			
1	2	3	4	5	6	7	8
1 j.	A	+	Cocci G+ en chaînettes	1 j.	A	+	Cocci G+ en chaînettes
	B	-			B	+	"
	C	-			C	+	"
	D	-			D	+	"
	E	-			E	+	"
	F	-			F	+	"
	G	+	Cocci G+ en chaînettes		G	+	"
2 j.	A	+	Cocci G+ en chaînettes	2 j.	A	+	Cocci G+ en chaînettes
	B	-			B	+	"
	C	-			C	-	
	D	-			D	+	Cocci G+ en chaînettes
	E	-			E	+	"
	F	-			F	+	"
	G	+	Cocci G+ en chaînettes		G	+	"
3 j.	A	+	Cocci G+ en chaînettes	3 j.	A	+	Cocci G+ en chaînettes
	B	-			B	+	"
	C	-			C	-	
	D	-			D	+	Cocci G+ en chaînettes
	E	-			E	+	"
	F	-			F	+	"
	G	+	Cocci G+ en chaînettes		G	+	"
4 j.	A	+	Cocci G+ en chaînettes	4 j.	A	+	Cocci G+ en chaînettes
	B	-			B	+	"
	C	-			C	-	
	D	-			D	+	Cocci G+ en chaînettes
	E	-			E	+	"
	F	-			F	+	"
	G	-			G	+	"

POUDRE D'EMAIL NORMAL

MILIEU INERTE				MILIEU INERTE + POUDRE D'EMAIL			
1	2	3	4	5	6	7	8
	A	+	Cocci G+ en chaînettes		A	+	Cocci G+ en chaînettes
	B	-			B	+	"
	C	-			C	-	
5 j.	D	-		5 j.	D	+	Cocci G+ en chaînettes
	E	-			E	+	"
	F	-			F	+	"
	G	-			G	+	"
	A	+	Cocci G+ en chaînettes		A	+	Cocci G+ en chaînettes
	B	-			B	+	"
	C	-			C	-	
6 j.	D	-		6 j.	D	-	
	E	-			E	+	Cocci G+ en chaînettes
	F	-			F	+	"
	G	-			G	+	"
	A	-			A	+	Cocci G+ en chaînettes
	B	-			B	+	"
	C	-			C	-	
7 j.	D	-		7 j.	D	-	
	E	-			E	+	Cocci G+ en chaînettes
	F	-			F	+	"
	G	-			G	+	"
	A	-			A	+	Cocci G+ en chaînettes
	B	-			B	+	"
	C	-			C	-	
8 j.	D	-		8 j.	D	-	
	E	-			E	-	
	F	-			F	-	
	G	-			G	-	
	A	-			A	+	Cocci G+ en chaînettes
	B	-			B	-	
	C	-			C	-	
9 j.	D	-		9 j.	D	-	
	E	-			E	-	
	F	-			F	-	
	G	-			G	-	

POUDRE D'EMAIL NORMAL

MILIEU INERTE				*MILIEU INERTE + POUDRE D'EMAIL*			
1	*2*	*3*	*4*	*5*	*6*	*7*	*8*
				10 j.	A	+	Cocci G+ en chaînettes
					B	-	
					C	-	
					D	-	
					E	-	
					F	-	
					G	-	
				11 j.	A	+	Cocci G+ en chaînettes
					B	-	
					C	-	
					D	-	
					E	-	
					F	-	
					G	-	
				12 j.	A	+	Cocci G+ en chaînettes
					B	-	
					C	-	
					D	-	
					E	-	
					F	-	
					G	-	
				13 j.	A	+	Cocci G+ en chaînettes
					B	-	
					C	-	
					D	-	
					E	-	
					F	-	
					G	-	
				14 j.	A	-	
					B	-	
					C	-	
					D	-	
					E	-	
					F	-	
					G	-	

Tableau 22 - Résultats des sub-cultures en milieu nutritif de STREPTOCOCCUS SANGUIS en fonction du temps de passage de cette bactérie sur milieu inerte seul ou additionné de poudre d'émail normal.

MILIEU INERTE

1 - Temps de passage de la souche sur milieu inerte.

2 - Prélèvements de la souche sur milieu inerte.

3 - Résultats des sub-cultures de ces prélèvements depuis 72 heures en milieu nutritif.

4 - Morphologie des bactéries dans les sub-cultures positives.

MILIEU INERTE + POUDRE D'EMAIL

5 - Temps de passage de la souche sur milieu inerte + poudre d'émail.

6 - Prélèvements de la souche sur milieu inerte + poudre d'émail.

7 - Résultats des sub-cultures de ces prélèvements depuis 72 heures en milieu nutritif.

8 - Morphologie des bactéries dans les sub-cultures positives.

POUDRE D'EMAIL NORMAL

MILIEU INERTE				MILIEU INERTE + POUDRE D'EMAIL			
1	2	3	4	5	6	7	8
1 j.	A	-		1 j.	A	-	
	B	+	Cocci G+ en chaînettes		B	+	Cocci G+ en chaînettes
	C	-			C	+	"
	D	-			D	+	"
	E	-			E	+	"
	F	+	Cocci G+ en chaînettes		F	+	"
2 j.	A	-		2 j.	A	-	
	B	-			B	-	
	C	-			C	-	
	D	-			D	-	
	E	-			E	-	
	F	+	Cocci G+ en chaînettes		F	+	Cocci G+ en chaînettes
3 j.	A	-		3 j.	A	-	
	B	-			B	-	
	C	-			C	-	
	D	-			D	-	
	E	-			E	-	
	F	-			F	+	Cocci G+ en chaînettes
4 j.	A	-		4 j.	A	-	
	B	-			B	-	
	C	-			C	-	
	D	-			D	-	
	E	-			E	-	
	F	-			F	+	Cocci G+ en chaînettes

POUDRE D'EMAIL NORMAL

MILIEU INERTE				MILIEU INERTE + POUDRE D'EMAIL			
1	2	3	4	5	6	7	8
5 j.	A B C D E F	- - - - - -		5 j.	A B C D E F	- - - - - -	
6 j.	A B C D E F	- - - - - -		6 j.	A B C D E F	- - - - - -	
7 j.	A B C D E F	- - - - - -		7 j.	A B C D E F	- - - - - -	

Tableau 23 - Résultats des sub-cultures en milieu nutritif de STREPTOCOCCUS SALIVARIUS en fonction du temps de passage de cette bactérie sur milieu inerte seul ou additionné de poudre d'émail normal.

MILIEU INERTE

1 - Temps de passage de la souche sur milieu inerte.

2 - Prélèvements de la souche sur milieu inerte.

3 - Résultats des sub-cultures de ces prélèvements depuis 72 heures en milieu nutritif.

4 - Morphologie des bactéries dans les sub-cultures positives.

MILIEU INERTE + POUDRE D'EMAIL

5 - Temps de passage de la souche sur milieu inerte + poudre d'émail.

6 - Prélèvements de la souche sur milieu inerte + poudre d'émail.

7 - Résultats des sub-cultures de ces prélèvements depuis 72 heures en milieu nutritif.

8 - Morphologie des bactéries dans les sub-cultures positives.

POUDRE D'EMAIL NORMAL

MILIEU INERTE				MILIEU INERTE + POUDRE D'EMAIL			
1	2	3	4	5	6	7	8
1 j.	A	+	Cocci G+ en chaînettes	1 j.	A	+	Cocci G+ en chaînettes
	B	+	"		B	+	"
	C	+	"		C	+	"
	D	+	"		D	+	"
	E	+	"		E	+	"
	F	+	"		F	+	"
2 j.	A	+	Cocci G+ en chaînettes	2 j.	A	+	Cocci G+ en chaînettes
	B	-			B	+	"
	C	+	Cocci G+ en chaînettes		C	+	"
	D	+	"		D	+	"
	E	+	"		E	+	"
	F	+	"		F	+	"
3 j.	A	+	Cocci G+ en chaînettes	3 j.	A	+	Cocci G+ en chaînettes
	B	-			B	+	"
	C	+	Cocci G+ en chaînettes		C	+	"
	D	+	"		D	+	"
	E	+	"		E	+	"
	F	+	"		F	+	"
4 j.	A	+	Cocci G+ en chaînettes	4 j.	A	+	Cocci G+ en chaînettes
	B	-			B	+	"
	C	+	Cocci G+ en chaînettes		C	+	"
	D	+	"		D	+	"
	E	+	"		E	+	"
	F	+	"		F	+	"
5 j.	A	+	Cocci G+ en chaînettes	5 j.	A	+	Cocci G+ en chaînettes
	B	-			B	+	"
	C	+	Cocci G+ en chaînettes		C	+	"
	D	+	"		D	+	"
	E	+	"		E	+	"
	F	+	"		F	+	"

POUDRE D'EMAIL NORMAL

MILIEU INERTE				MILIEU INERTE + POUDRE D'EMAIL			
1	2	3	4	5	6	7	8
6 j.	A	+	Cocci G+ en chaînettes	6 j.	A	+	Cocci G+ en chaînettes
	B	-			B	+	"
	C	+	Cocci G+ en chaînettes		C	+	"
	D	+	"		D	+	"
	E	+	"		E	+	"
	F	+	"		F	+	"
7 j.	A	+	Cocci G+ en chaînettes	7 j.	A	+	Cocci G+ en chaînettes
	B	-			B	+	"
	C	+	Cocci G+ en chaînettes		C	+	"
	D	-			D	+	"
	E	-			E	+	"
	F	-			F	+	"
8 j.	A	+	Cocci G+ en chaînettes	8 j.	A	+	Cocci G+ en chaînettes
	B	-			B	-	
	C	-			C	-	
	D	-			D	-	
	E	-			E	-	
	F	-			F	+	Cocci G+ en chaînettes
9 j.	A	+	Cocci G+ en chaînettes	9 j.	A	+	Cocci G+ en chaînettes
	B	-			B	-	
	C	-			C	-	
	D	-			D	-	
	E	-			E	-	
	F	-			F	+	Cocci G+ en chaînettes
10 j.	A	-		10 j.	A	+	Cocci G+ en chaînettes
	B	-			B	-	
	C	-			C	-	
	D	-			D	-	
	E	-			E	-	
	F	-			F	+	Cocci G+ en chaînettes

POUDRE D'EMAIL NORMAL

MILIEU INERTE				MILIEU INERTE + POUDRE D'EMAIL			
1	2	3	4	5	6	7	8
11 j.	A	-		11 j.	A	-	
	B	-			B	-	
	C	-			C	-	
	D	-			D	-	
	E	-			E	-	
	F	-			F	+	Cocci G+ en chaînettes
12 j.	A	-		12 j.	A	-	
	B	-			B	-	
	C	-			C	-	
	D	-			D	-	
	E	-			E	-	
	F	-			F	+	Cocci G+ en chaînettes
13 j.	A	-		13 j.	A	-	
	B	-			B	-	
	C	-			C	-	
	D	-			D	-	
	E	-			E	-	
	F	-			F	+	Cocci G+ en chaînettes
				14 j.	A	-	
					B	-	
					C	-	
					D	-	
					E	-	
					F	¥	Cocci G+ en chaînettes
				15 j.	A	-	
					B	-	
					C	-	
					D	-	
					E	-	
					F	-	
				16 j.	A	-	
					B	-	
					C	-	
					D	-	
					E	-	
					F	-	

Tableau 24 - Résultats des sub-cultures en milieu nutritif d'une souche de STAPHYLOCOQUE en fonction du temps de passage de cette bactérie sur milieu inerte seul ou additionné de poudre d'émail normal.

MILIEU INERTE

1 - Temps de passage de la souche sur milieu inerte.

2 - Prélèvements de la souche sur milieu inerte.

3 - Résultats des sub-cultures de ces prélèvements depuis 72 heures en milieu nutritif.

4 - Morphologie des bactéries dans les sub-cultures positives.

MILIEU INERTE + POUDRE D'EMAIL

5 - Temps de passage de la souche sur milieu inerte + poudre d'émail.

6 - Prélèvements de la souche sur milieu inerte + poudre d'émail.

7 - Résultats des sub-cultures de ces prélèvements depuis 72 heures en milieu nutritif.

8 - Morphologie des bactéries dans les sub-cultures positives.

POUDRE D'EMAIL NORMAL

MILIEU INERTE				MILIEU INERTE + POUDRE D'EMAIL			
1	2	3	4	5	6	7	8
1 j.	A	+	Cocci G+ en amas	1 j.	A	+	Cocci G+ en amas
	B	+	"		B	+	"
	C	+	"		C	+	"
	D	+	"		D	+	"
	E	+	"		E	+	"
2 j.	A	+	Cocci G+ en amas	2 j.	A	+	Cocci G+ en amas
	B	+	"		B	+	"
	C	+	"		C	+	"
	D	+	"		D	+	"
	E	+	"		E	+	"
3 j.	A	+	Cocci G+ en amas	3 j.	A	+	Cocci G+ en amas
	B	+	"		B	+	"
	C	+	"		C	+	"
	D	+	"		D	+	"
	E	+	"		E	+	"
4 j.	A	+	Cocci G+ en amas	4 j.	A	+	Cocci G+ en amas
	B	+	"		B	+	"
	C	+	"		C	+	"
	D	+	"		D	+	"
	E	+	"		E	+	"
5 j.	A	-		5 j.	A	+	Cocci G+ en amas
	B	-			B	+	"
	C	-			C	+	"
	D	-			D	+	"
	E	-			E	+	"
6 j.	A	-		6 j.	A	+	Cocci G+ en amas
	B	-			B	+	"
	C	-			C	+	"
	D	-			D	+	"
	E	-			E	+	"
7 j.	A	-		7 j.	A	+	Cocci G+ en amas
	B	-			B	+	"
	C	-			C	+	"
	D	-			D	+	"
	E	-			E	+	"

POUDRE D'EMAIL NORMAL

MILIEU INERTE				MILIEU INERTE + POUDRE D'EMAIL			
1	2	3	4	5	6	7	8
8 j.	A B C D E	- - - - -		8 j.	A B C D E	+ + + + +	Cocci G+ en amas " " " "
				9 j.	A B C D E	+ + + + +	Cocci G+ en amas " " " "
				10 j.	A B C D E	+ + + + +	Cocci G+ en amas " " " "
				11 j.	A B C D E	+ + + + +	Cocci G+ en amas " " " "
				12 j.	A B C D E	- + + + +	 Cocci G+ en amas " " "
				13 j.	A B C D E	- + + + +	 Cocci G+ en amas " " "
				14 j.	A B C D E	- + - - +	 Cocci G+ en amas Cocci G+ en amas

POUDRE D'EMAIL NORMAL

MILIEU INERTE				MILIEU INERTE + POUDRE D'EMAIL			
1	2	3	4	5	6	7	8
				15 j.	A	-	
					B	+	Cocci G+ en amas
					C	-	
					D	-	
					E	+	Cocci G+ en amas
				16 j.	A	-	
					B	+	Cocci G+ en amas
					C	-	
					D	-	
					E	-	
				17 j.	A	-	
					B	+	Cocci G+ en amas
					C	-	
					D	-	
					E	-	
				18 j.	A	-	
					B	+	Cocci G+ en amas
					C	-	
					D	-	
					E	-	
				19 j.	A	-	
					B	+	Cocci G+ en amas
					C	-	
					D	-	
					E	-	
				20 j.	A	-	
					B	-	
				21 j.	C	-	
					D	-	
				22 j.	E	-	

Tableau 25 - Résultats des sub-cultures en milieu nutritif d'une souche de LACTOBACILLE en fonction du temps de passage de cette bactérie sur milieu inerte seul ou additionné de poudre d'émail normal.

MILIEU INERTE

1 - *Temps de passage de la souche sur milieu inerte.*

2 - *Prélèvements de la souche sur milieu inerte.*

3 - *Résultats des sub-cultures de ces prélèvements depuis 72 heures en milieu nutritif.*

4 - *Morphologie des bactéries dans les sub-cultures positives.*

MILIEU INERTE + POUDRE D'EMAIL

5 - *Temps de passage de la souche sur milieu inerte + poudre d'émail.*

6 - *Prélèvements de la souche sur milieu inerte + poudre d'émail.*

7 - *Résultats des sub-cultures de ces prélèvements depuis 72 heures en milieu nutritif.*

8 - *Morphologie des bactéries dans les sub-cultures positives.*

POUDRE D'EMAIL NORMAL

MILIEU INERTE				MILIEU INERTE + POUDRE D'EMAIL			
1	2	3	4	5	6	7	8
1 j.	A	-		1 j.	A	+	Bâtonnets G+
	B	-			B	+	"
	C	-			C	+	"
	D	-			D	+	"
	E	-			E	+	"
2 j.	A	-		2 j.	A	+	Bâtonnets G+
	B	-			B	+	"
	C	-			C	+	"
	D	-			D	+	"
	E	-			E	+	"
3 j.	A	-		3 j.	A	+	Bâtonnets G+
	B	-			B	+	"
	C	-			C	+	"
	D	-			D	+	"
	E	-			E	+	"
4 j.	A	-		4 j.	A	+	Bâtonnets G+
	B	-			B	+	"
	C	-			C	+	"
	D	-			D	+	"
	E	-			E	+	"
				5 j.	A	+	Bâtonnets G+
					B	+	"
					C	-	
					D	-	
					E	+	Bâtonnets G+
				6 j.	A	+	Bâtonnets G+
					B	+	"
					C	-	
					D	-	
					E	+	Bâtonnets G+

POUDRE D'EMAIL NORMAL

MILIEU INERTE				MILIEU INERTE + POUDRE D'EMAIL			
1	2	3	4	5	6	7	8
				7 j.	A	+	Bâtonnets G+
					B	+	"
					C	−	
					D	−	
					E	+	Bâtonnets G+
				8 j.	A	+	Bâtonnets G+
					B	+	"
					C	−	
					D	−	
					E	+	Bâtonnets G+
				9 j.	A	+	Bâtonnets G+
					B	−	
					C	−	
					D	−	
					E	+	Bâtonnets G+
				10 j.	A	+	Bâtonnets G+
					B	−	
					C	−	
					D	−	
					E	+	Bâtonnets G+
				11 j.	A	+	Bâtonnets G+
					B	−	
					C	−	
					D	−	
					E	−	

POUDRE D'EMAIL NORMAL

MILIEU INERTE				MILIEU INERTE + POUDRE D'EMAIL			
1	2	3	4	5	6	7	8
				12 j.	A B C D E	+ - - - -	Bâtonnets G+
				13 j.	A B C D E	+ - - - -	Bâtonnets G+
				14 j.	A B C D E	- - - - -	
				15 j.	A B C D E	- - - - -	
				16 j.	A B C D E	- - - - -	

Tableau 26 - Résultats des sub-cultures en milieu nutritif du COLIBACILLE en fonction du temps de passage de cette bactérie sur milieu inerte seul ou additionné de poudre d'émail normal.

MILIEU INERTE

1 - *Temps de passage de la souche sur milieu inerte.*

2 - *Prélèvements de la souche sur milieu inerte.*

3 - *Résultats des sub-cultures de ces prélèvements depuis 72 heures en milieu nutritif.*

4 - *Morphologie des bactéries dans les sub-cultures positives.*

MILIEU INERTE + POUDRE D'EMAIL.

5 - *Temps de passage de la souche sur milieu inerte + poudre d'émail.*

6 - *Prélèvements de la souche sur milieu inerte + poudre d'émail.*

7 - *Résultats des sub-cultures de ces prélèvements depuis 72 heures en milieu nutritif.*

8 - *Morphologie des bactéries dans les sub-cultures positives.*

POUDRE D'EMAIL NORMAL

MILIEU INERTE				MILIEU INERTE + POUDRE D'EMAIL			
1	2	3	4	5	6	7	8
	A	-			A	+	Bâtonnets G-
	B	+	Bâtonnets G-		B	+	"
1 j.	C	+	"	1 j.	C	+	"
	D	-			D	+	"
	E	+	Bâtonnets G-		E	+	"
	A	-			A	+	Bâtonnets G-
	B	+	Bâtonnets G-		B	+	"
2 j.	C	+	"	2 j.	C	+	"
	D	-			D	+	"
	E	+	Bâtonnets G-		E	+	"
	A	-			A	+	Bâtonnets G-
	B	+	Bâtonnets G-		B	+	"
3 j.	C	+	"	3 j.	C	+	"
	D	-			D	+	"
	E	+	Bâtonnets G-		E	+	"
	A	-			A	+	Bâtonnets G-
	B	+	Bâtonnets G-		B	+	"
4 j.	C	+	"	4 j.	C	+	"
	D	-			D	+	"
	E	+	Bâtonnets G-		E	+	"
	A	-			A	+	Bâtonnets G-
	B	-			B	+	"
5 j.	C	-		5 j.	C	+	"
	D	-			D	+	"
	E	-			E	+	"
	A	-			A	+	Bâtonnets G-
	B	-			B	-	
6 j.	C	-		6 j.	C	+	Bâtonnets G-
	D	-			D	+	"
	E	-			E	+	"

POUDRE D' EMAIL NORMAL

MILIEU INERTE				MILIEU INERTE + POUDRE D'EMAIL			
1	2	3	4	5	6	7	8
	A	-			A	+	Bâtonnets G-
	B	-			B	-	
7 j.	C	-		7 j.	C	+	Bâtonnets G-
	D	-			D	+	"
	E	-			E	+	"
	A	-			A	+	Bâtonnets G-
	B	-			B	-	
8 j.	C	-		8 j.	C	+	Bâtonnets G-
	D	-			D	+	"
	E	-			E	+	"
					A	+	Bâtonnets G-
					B	-	
				9 j.	C	+	Bâtonnets G-
					D	+	"
					E	+	"
					A	+	Bâtonnets G-
					B	-	
				10 j.	C	+	Bâtonnets G-
					D	+	"
					E	+	"
					A	+	Bâtonnets G-
					B	-	
				11 j.	C	+	Bâtonnets G-
					D	+	"
					E	+	"
					A	+	Bâtonnets G-
					B	-	
				12 j.	C	+	Bâtonnets G-
					D	+	"
					E	+	"

POUDRE D'EMAIL NORMAL

MILIEU INERTE				MILIEU INERTE + POUDRE D'EMAIL			
1	2	3	4	5	6	7	8
				13 j.	A B C D E	- - - + -	Bâtonnets G-
				14 j.	A B C D E	- - - + -	Bâtonnets G-
				15 j.	A B C D E	- - - + -	Bâtonnets G-
				16 j.	A B C D E	- - - - -	
				17 j.	A B C D E	- - - - -	
				18 j.	A B C D E	- - - - -	

Tableau 27 - Résultats des sub-cultures en milieu nutritif de STREPTOCOCCUS MITIS en fonction du temps de passage de cette bactérie sur milieu inerte seul ou additionné de poudre d'émail calciné.

MILIEU INERTE

1 - Temps de passage de la souche sur milieu inerte.

2 - Prélèvements de la souche sur milieu inerte.

3 - Résultats des sub-cultures de ces prélèvements depuis 72 heures en milieu nutritif.

4 - Morphologie des bactéries dans les sub-cultures positives.

MILIEU INERTE + POUDRE D'EMAIL

5 - Temps de passage de la souche sur milieu inerte + poudre d'émail.

6 - Prélèvements de la souche sur milieu inerte + poudre d'émail.

7 - Résultats des sub-cultures de ces prélèvements depuis 72 heures en milieu nutritif.

8 - Morphologie des bactéries dans les sub-cultures positives.

POUDRE D'EMAIL CALCINE

MILIEU INERTE				MILIEU INERTE + POUDRE D'EMAIL			
1	2	3	4	5	6	7	8
1 j.	A	+	Cocci G+ en chaînettes	1 j.	A	+	Cocci G+ en chaînettes
	B	+	"		B	+	"
	C	+	"		C	+	"
	D	+	"		D	+	"
	E	+	"		E	+	"
2 j.	A	+	Cocci G+ en chaînettes	2 j.	A	+	Cocci G+ en chaînettes
	B	+	"		B	+	"
	C	+	"		C	+	"
	D	+	"		D	+	"
	E	+	"		E	+	"
3 j.	A	+	Cocci G+ en chaînettes	3 j.	A	+	Cocci G+ en chaînettes
	B	+	"		B	+	"
	C	+	"		C	+	"
	D	+	"		D	+	"
	E	+	"		E	+	"
4 j.	A	-		4 j.	A	+	Cocci G+ en chaînettes
	B	-			B	+	"
	C	+	Cocci G+ en chaînettes		C	+	"
	D	+	"		D	+	"
	E	-			E	+	"
5 j.	A	-		5 j.	A	-	
	B	-			B	-	
	C	-			C	-	
	D	-			D	-	
	E	-			E	-	
6 j.	A	-		6 j.	A	-	
	B	-			B	-	
	C	-			C	-	
	D	-			D	-	
	E	-			E	-	
7 j.	A	-		7 j.	A	-	
	B	-			B	-	
	C	-			C	-	
	D	-			D	-	
	E	-			E	-	

Tableau 28 - Résultats des sub-cultures en milieu nutritif de STREPTOCOCCUS SANGUIS en fonction du temps de passage de cette bactérie sur milieu inerte seul ou additionné de poudre d'émail calciné.

MILIEU INERTE

1 - Temps de passage de la souche sur milieu inerte.

2 - Prélèvements de la souche sur milieu inerte.

3 - Résultats des sub-cultures de ces prélèvements depuis 72 heures en milieu nutritif.

4 - Morphologie des bactéries dans les sub-cultures positives.

MILIEU INERTE + POUDRE D'EMAIL.

5 - Temps de passage de la souche sur milieu inerte + poudre d'émail.

6 - Prélèvements de la souche sur milieu inerte + poudre d'émail.

7 - Résultats des sub-cultures de ces prélèvements depuis 72 heures en milieu nutritif.

8 - Morphologie des bactéries dans les sub-cultures positives.

POUDRE D'EMAIL CALCINE

MILIEU INERTE				MILIEU INERTE + POUDRE D'EMAIL			
1	2	3	4	5	6	7	8
1 j.	A	+	Cocci G+ en chainettes	1 j.	A	+	Cocci G+ en chainettes
	B	+	"		B	+	"
	C	+	"		C	+	"
	D	+	"		D	+	"
	E	+	"		E	+	"
	F	-	"		F	+	"
2 j.	A	-		2 j.	A	-	
	B	-			B	-	
	C	-			C	-	
	D	-			D	-	
	E	-			E	-	
	F	-			F	-	
3 j.	A	-		3 j.	A	-	
	B	-			B	-	
	C	-			C	-	
	D	-			D	-	
	E	-			E	-	
	F	-			F	-	
4 j.	A	-		4 j.	A	-	
	B	-			B	-	
	C	-			C	-	
	D	-			D	-	
	E	-			E	-	
	F	-			F	-	

Tableau 29 - Résultats des sub-cultures en milieu nutritif de STREPTOCOCCUS SALIVARIUS en fonction du temps de passage de cette bactérie sur milieu inerte seul ou additionné de poudre d'émail calciné.

MILIEU INERTE

1 - Temps de passage de la souche sur milieu inerte.

2 - Prélèvements de la souche sur milieu inerte.

3 - Résultats des sub-cultures de ces prélèvements depuis 72 heures en milieu nutritif.

4 - Morphologie des bactéries dans les sub-cultures positives.

MILIEU INERTE + POUDRE D'EMAIL.

5 - Temps de passage de la souche sur milieu inerte + poudre d'émail.

6 - Prélèvements de la souche sur milieu inerte + poudre d'émail.

7 - Résultats des sub-cultures de ces prélèvements depuis 72 heures en milieu nutritif.

8 - Morphologie des bactéries dans les sub-cultures positives.

POUDRE D'EMAIL CALCINE

MILIEU INERTE				MILIEU INERTE + POUDRE D'EMAIL			
1	2	3	4	5	6	7	8
1 j.	A	+	Cocci G+ en chaînettes	1 j.	A	+	Cocci G+ en chaînettes
	B	+	"		B	+	"
	C	+	"		C	+	"
	D	+	"		D	+	"
	E	+	"		E	+	"
2 j.	A	+	Cocci G+ en chaînettes	2 j.	A	+	Cocci G+ en chaînettes
	B	+	"		B	+	"
	C	+	"		C	+	"
	D	+	"		D	+	"
	E	+	"		E	+	"
3 j.	A	+	Cocci G+ en chaînettes	3 j.	A	+	Cocci G+ en chaînettes
	B	+	"		B	+	"
	C	+	"		C	+	"
	D	+	"		D	+	"
	E	+	"		E	+	"
4 j.	A	+	Cocci G+ en chaînettes	4 j.	A	+	Cocci G+ en chaînettes
	B	+	"		B	+	"
	C	+	"		C	+	"
	D	+	"		D	+	"
	E	+	"		E	+	"
5 j.	A	+	Cocci G+ en chaînettes	5 j.	A	+	Cocci G+ en chaînettes
	B	+	"		B	+	"
	C	+	"		C	+	"
	D	+	"		D	+	"
	E	+	"		E	+	"

POUDRE D'EMAIL CALCINE

MILIEU INERTE				MILIEU INERTE + POUDRE D'EMAIL			
1	2	3	4	5	6	7	8
6 j.	A	-		6 j.	A	+	Cocci G+ en chainettes
	B	-			B	+	"
	C	+	Cocci G+ en chainettes		C	+	"
	D	+	"		D	+	"
	E	-			E	+	"
7 j.	A	-		7 j.	A	+	Cocci G+ en chainettes
	B	-			B	-	
	C	-			C	+	Cocci G+ en chainettes
	D	-			D	+	"
	E	-			E	-	
8 j.	A	-		8 j.	A	-	
	B	-			B	-	
	C	-			C	-	
	D	-			D	-	
	E	-			E	-	
9 j.	A	-		9 j.	A	-	
	B	-			B	-	
	C	-			C	-	
	D	-			D	-	
	E	-			E	-	
10 j.	A	-		10 j.	A	-	
	B	-			B	-	
	C	-			C	-	
	D	-			D	-	
	E	-			E	-	

Tableau 30 - Résultats des sub-cultures en milieu nutritif d'une souche de STAPHYLOCOQUE en fonction du temps de passage de cette bactérie sur milieu inerte seul ou additionné de poudre d'émail calciné.

MILIEU INERTE

1 - Temps de passage de la souche sur milieu inerte.

2 - Prélèvements de la souche sur milieu inerte.

3 - Résultats des sub-cultures de ces prélèvements depuis 72 heures en milieu nutritif.

4 - Morphologie des bactéries dans les sub-cultures positives.

MILIEU INERTE + POUDRE D'EMAIL

5 - Temps de passage de la souche sur milieu inerte + poudre d'émail.

6 - Prélèvements de la souche sur milieu inerte + poudre d'émail.

7 - Résultats des sub-cultures de ces prélèvements depuis 72 heures en milieu nutritif.

8 - Morphologie des bactéries dans les sub-cultures positives.

POUDRE D'EMAIL CALCINE

MILIEU INERTE				MILIEU INERTE + POUDRE D'EMAIL			
1	2	3	4	5	6	7	8
1 j.	A	+	Cocci G+ en amas	1 j.	A	+	Cocci G+ en amas
	B	+	"		B	+	"
	C	+	"		C	+	"
	D	-			D	-	
	E	-			E	-	
2 j.	A	-		2 j.	A	-	
	B	-			B	-	
	C	-			C	-	
	D	-			D	-	
	E	-			E	-	
3 j.	A	-		3 j.	A	-	
	B	-			B	-	
	C	-			C	-	
	D	-			D	-	
	E	-			E	-	
4 j.	A	-		4 j.	A	-	
	B	-			B	-	
	C	-			C	-	
	D	-			D	-	
	E	-			E	-	
5 j.	A	-		5 j.	A	-	
	B	-			B	-	
	C	-			C	-	
	D	-			D	-	
	E	-			E	-	

Tableau 31 - Résultats des sub-cultures en milieu nutritif d'une souche de LACTOBACILLE en fonction du temps de passage de cette bactérie sur milieu inerte seul ou additionné de poudre d'émail calciné.

MILIEU INERTE

1 - Temps de passage de la souche sur milieu inerte.

2 - Prélèvements de la souche sur milieu inerte.

3 - Résultats des sub-cultures de ces prélèvements depuis 72 heures en milieu nutritif.

4 - Morphologie des bactéries dans les sub-cultures positives.

MILIEU INERTE + POUDRE D'EMAIL

5 - Temps de passage de la souche sur milieu inerte + poudre d'émail.

6 - Prélèvements de la souche sur milieu inerte + poudre d'émail.

7 - Résultats des sub-cultures de ces prélèvements depuis 72 heures en milieu nutritif.

8 - Morphologie des bactéries dans les sub-cultures positives.

POUDRE D'EMAIL CALCINE

MILIEU INERTE				MILIEU INERTE + POUDRE D'EMAIL			
1	2	3	4	5	6	7	8
	A	-			A	-	
	B	-			B	-	
1 j.	C	-		1 j.	C	-	
	D	-			D	-	
	E	-			E	-	
	A	-			A	-	
	B	-			B	-	
2 j.	C	-		2 j.	C	-	
	D	-			D	-	
	E	-			E	-	
	A	-			A	-	
	B	-			B	-	
3 j.	C	-		3 j.	C	-	
	D	-			D	-	
	E	-			E	-	

Tableau 32 - Résultats des sub-cultures en milieu nutritif d'une souche de COLIBACILLE en fonction du temps de passage de cette bactérie sur milieu inerte seul ou additionné de poudre d'émail calciné.

MILIEU INERTE

1 - *Temps de passage de la souche sur milieu inerte.*

2 - *Prélèvements de la souche sur milieu inerte.*

3 - *Résultats des sub-cultures de ces prélèvements depuis 72 heures en milieu nutritif.*

4 - *Morphologie des bactéries dans les sub-cultures positives.*

MILIEU INERTE + POUDRE D'EMAIL

5 - *Temps de passage de la souche sur milieu inerte + poudre d'émail.*

6 - *Prélèvements de la souche sur milieu inerte + poudre d'émail.*

7 - *Résultats des sub-cultures de ces prélèvements depuis 72 heures en milieu nutritif.*

8 - *Morphologie des bactéries dans les sub-cultures positives.*

POUDRE D'EMAIL CALCINE

MILIEU INERTE				MILIEU INERTE + POUDRE D'EMAIL			
1	2	3	4	5	6	7	8
1 j.	A	+	Coccobacilles G-	1 j.	A	+	Coccobacilles G-
	B	+	"		B	+	"
	C	+	"		C	+	"
	D	+	"		D	+	"
	E	+	"		E	+	"
2 j.	A	+	Coccobacilles G-	2 j.	A	+	Coccobacilles G-
	B	-			B	-	
	C	-			C	-	
	D	-			D	+	Coccobacilles G-
	E	-			E	-	
3 j.	A	+	Coccobacilles G-	3 j.	A	+	Coccobacilles G-
	B	-			B	-	
	C	-			C	-	
	D	-			D	-	
	E	-			E	-	
4 j.	A	-		4 j.	A	-	
	B	-			B	-	
	C	-			C	-	
	D	-			D	-	
	E	-			E	-	
5 j.	A	-		5 j.	A	-	
	B	-			B	-	
	C	-			C	-	
	D	-			D	-	
	E	-			E	-	
6 j.	A	-		6 j.	A	-	
	B	-			B	-	
	C	-			C	-	
	D	-			D	-	
	E	-			E	-	

L'ensemble de ces résultats est regroupé dans le tableau 33 (émail normal) et dans le tableau 34 (émail calciné).*

(*) *Nous n'avons pas exposé dans ces tableaux les résultats concernant le Bacille pyocyanique car cette bactérie n'a pu être valablement expérimentée ; elle conserve, en effet, sa vitalité intacte pendant au moins 51 jours sur le milieu inerte seul aussi bien que sur celui additionné de poudre d'émail normal ou calciné.*

SOUCHE ETUDIEE	MILIEU INERTE																		
	Nombre de prélèvements quotidiens de la souche sur milieu inerte	Nombre des sub-cultures positives obtenues en 72 heures à partir de ces prélèvements ; lesquels sont effectués après : (exprimé en jours)																	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
Streptococcus mitis	7	2	2	2	1	1	1	0	0	0	0	0								
Streptococcus sanguis	6	2	1	0	0	0	0	0												
Streptococcus salivarius	6	6	5	5	5	5	5	2	1	1	0	0	0	0	0					
Staphylo-coccus	5	5	5	5	5	0	0	0	0	0										
Lacto-bacillus	5	0	0	0	0	0														
Escherichia coli	5	3	3	3	3	0	0	0	0	0										

O R M A L

M I L I E U I N E R T E + P O U D R E D ' E M A I L

mbre de prélève-ts quotidiens de souche, sur milieu nerte + poudre d'émail	*Nombre des sub-cultures positives obtenues en 72 heures à partir de ces prélèvements ; lesquels sont effectués après : (exprimé en jours)*																			
	1	*2*	*3*	*4*	*5*	*6*	*7*	*8*	*9*	*10*	*11*	*12*	*13*	*14*	*15*	*16*	*17*	*18*	*19*	*20*
7	7	6	6	6	6	5	5	2	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0		
6	5	1	1	1	0	0	0	0	0											
6	6	6	6	6	6	6	6	2	2	2	1	1	1	1	0	0	0	0	0	
5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	4	4	2	2	1	1	1	1	0
5	5	5	5	5	3	3	3	3	2	2	1	1	1	0	0	0	0	0		
5	5	5	5	5	5	4	4	4	4	4	4	4	1	1	1	0	0	0	0	0

SOUCHE ETUDIEE	MILIEU INERTE																		
	Nombre de prélèvements quotidiens de la souche sur milieu inerte	Nombre des sub-cultures positives obtenues en 72 heures à partir de ces prélèvements ; lesquels sont effectués après : (exprimé en jours)																	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
Streptococcus mitis	5	5	5	5	2	0	0	0	0	0										
Streptococcus sanguis	6	5	0	0	0	0	0													
Streptococcus salivarius	5	5	5	5	5	2	0	0	0	0	0									
Staphylo-coccus	5	3	0	0	0	0	0													
Lacto-bacillus	5	0	0	0	0	0														
Escherichia coli	5	5	1	1	0	0	0	0	0											

MILIEU INERTE + POUDRE D'EMAIL	
Nombre de prélèvements quotidiens de souche sur milieu inerte + poudre d'émail	*Nombre des sub-cultures positives obtenues en 72 heures à partir de ces prélèvements ; lesquels sont effectués après : (exprimé en jours)* 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20
5	5 5 5 5 5 0 0 0 0 0
6	6 0 0 0 0 0
5	5 5 5 5 5 5 3 0 0 0 0 0 0
5	3 0 0 0 0 0
5	0 0 0 0 0
5	5 2 1 0 0 0 0 0

C - INTERPRETATION DES RESULTATS.

La lecture du tableau 33 (émail normal) nous permet de constater que, dans tous les cas, il y a une augmentation de la durée de survie des bactéries au contact de l'émail normal (non calciné).

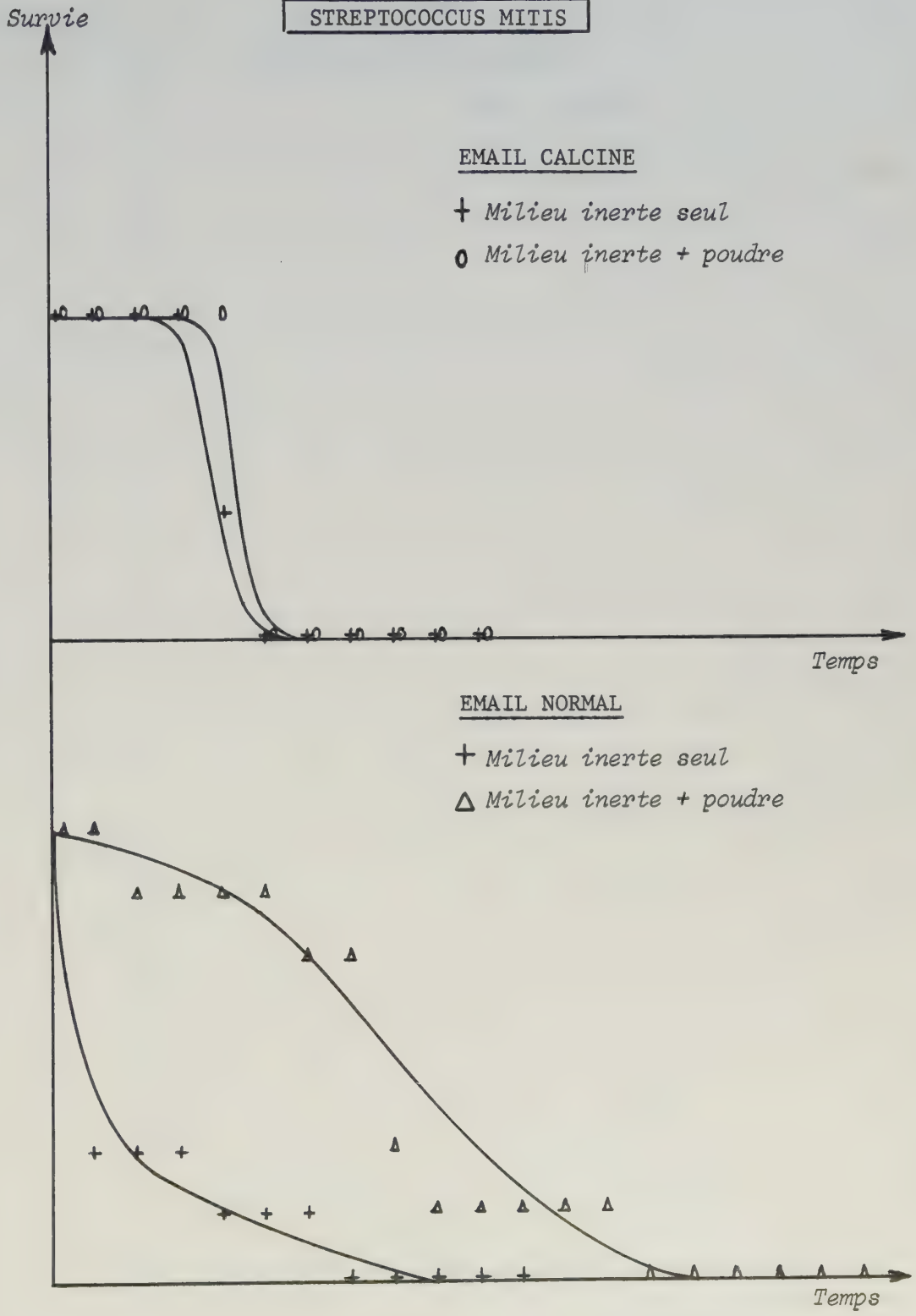
Par contre, il n'y a pas d'augmentation de la durée de survie en présence d'émail calciné (tableau 34) ; cette survie est alors comparable à la survie des témoins sur le milieu inerte seul.

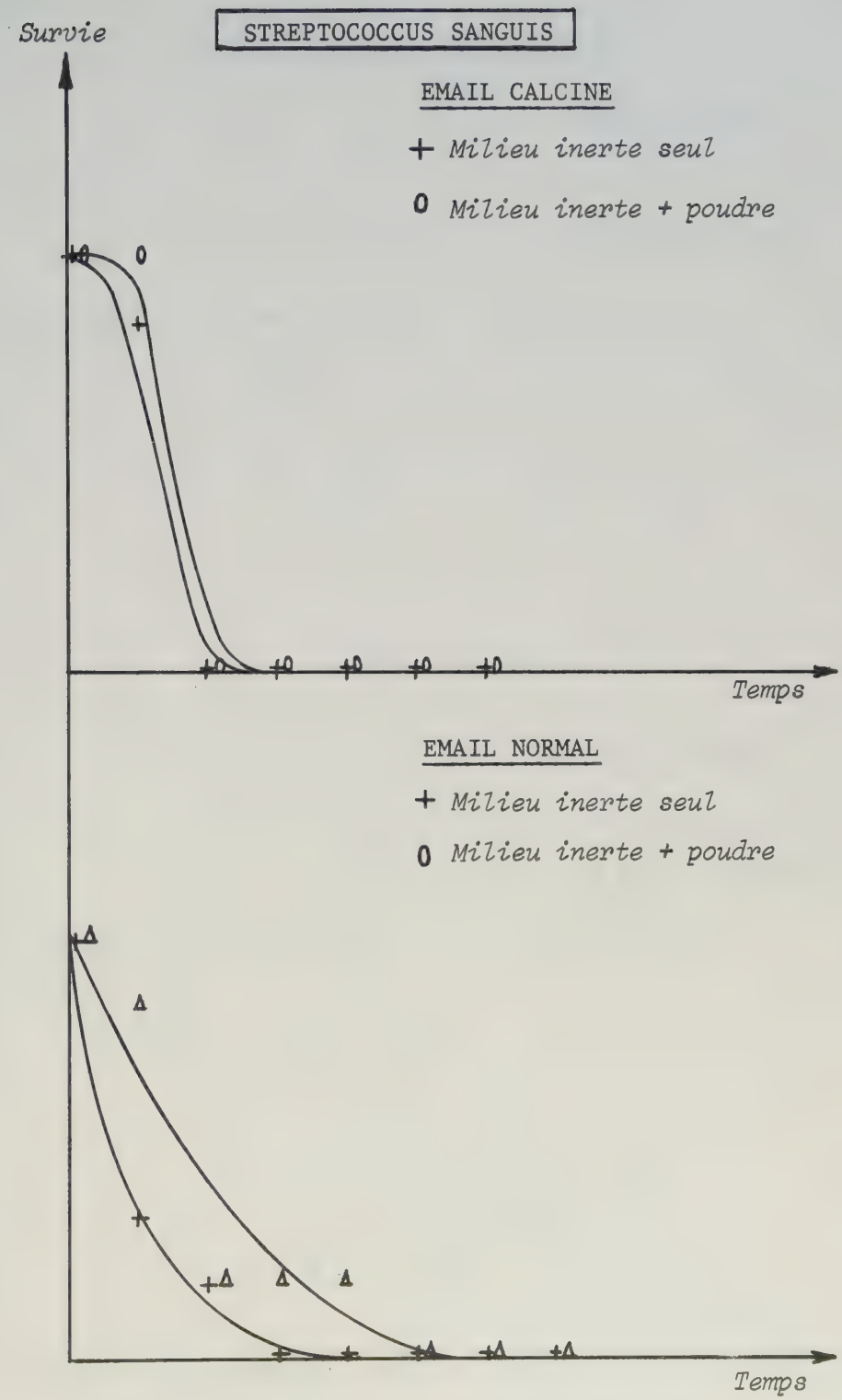
Pour apprécier quantitativement les phénomènes, nous avons établi, pour chaque souche bactérienne en milieu inerte, la courbe moyenne de survie en fonction du temps de contact des bactéries avec ce milieu seul et additionné d'émail normal ou calciné.

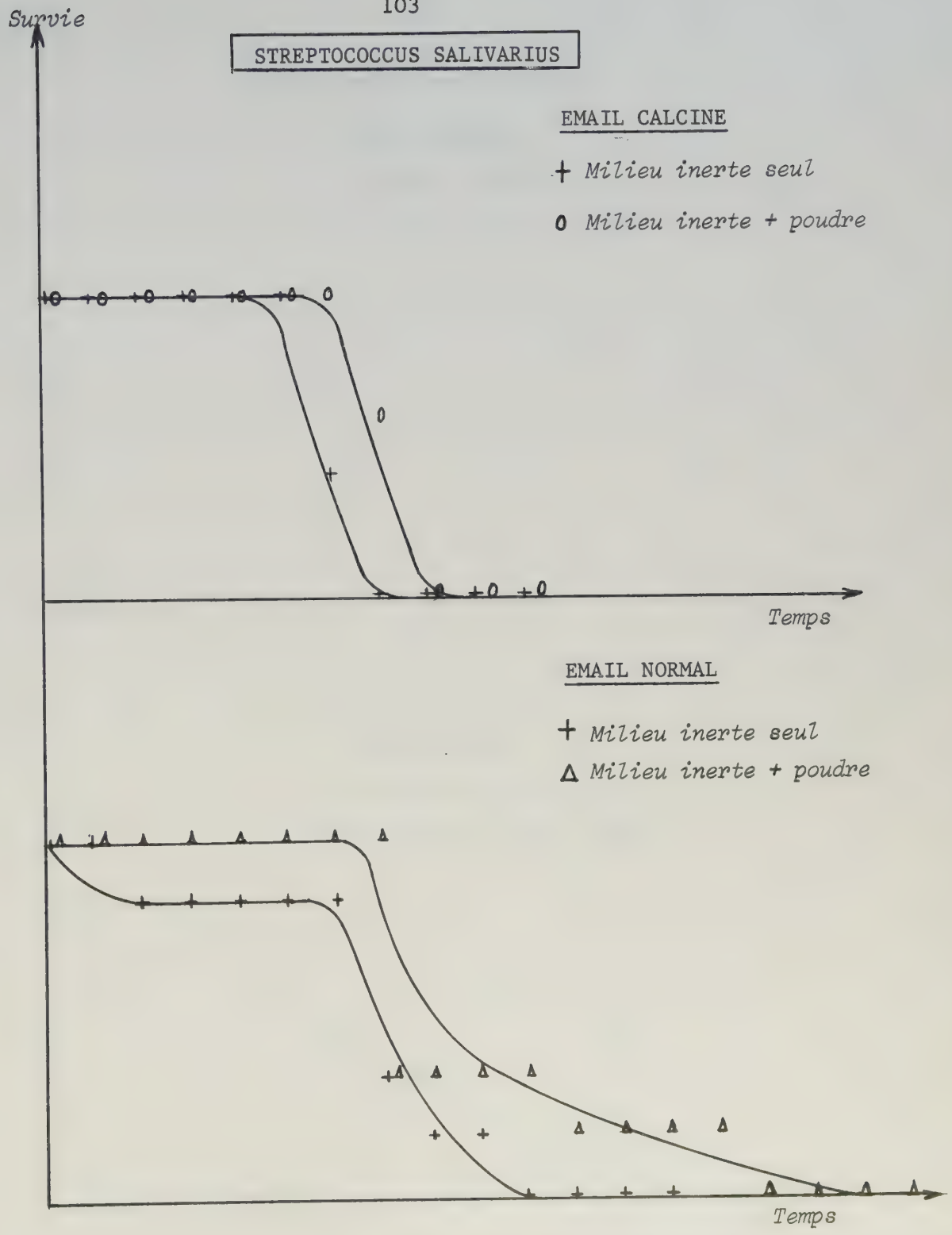
D'autre part, nous avons comparé les surfaces de ces courbes ; en effet, le rapport des surfaces de ces courbes est égal au rapport des poids de papier leur correspondant. Ces poids ont été établis par la technique de la pesée des calques.

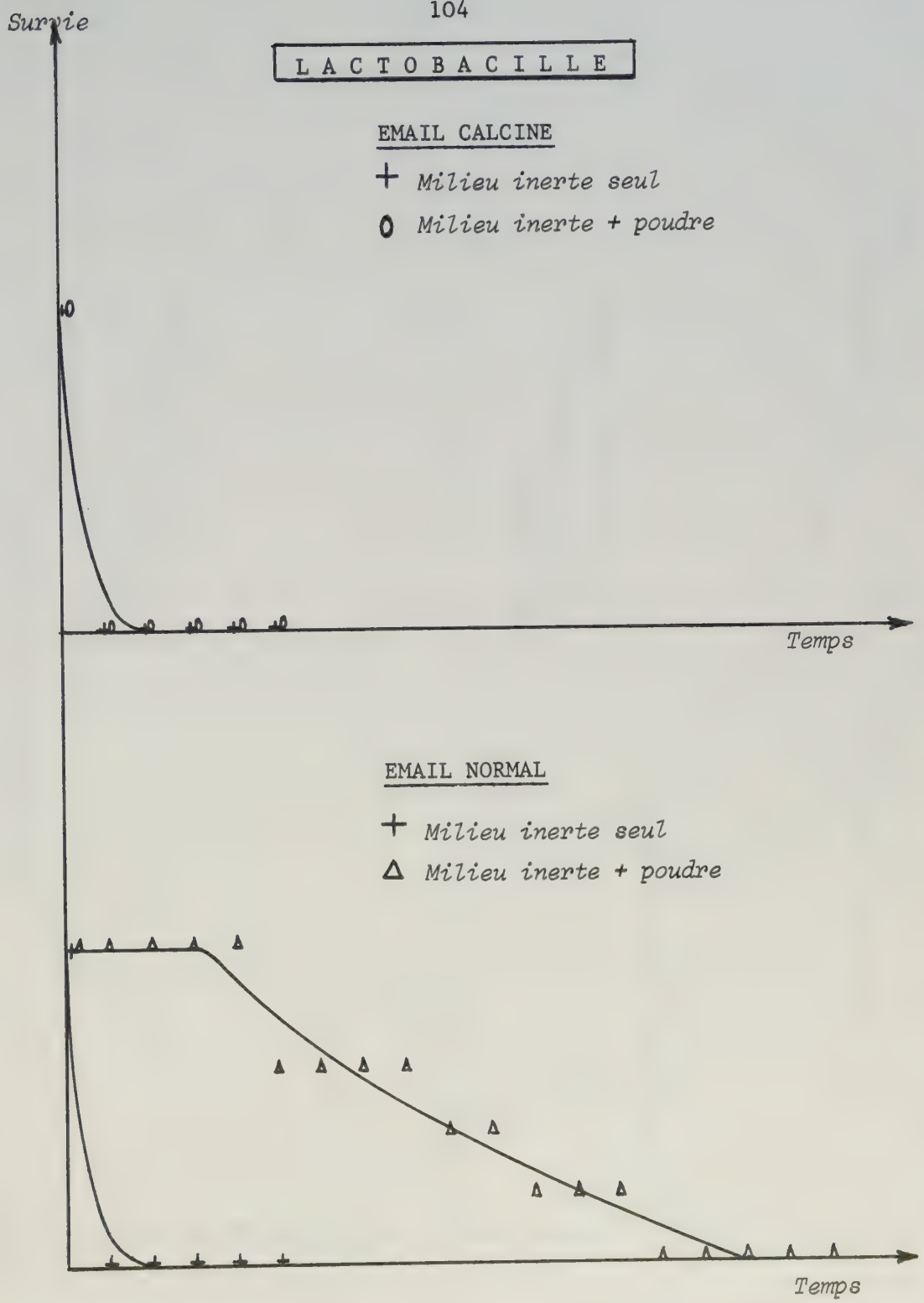
Les résultats sont exposés dans le tableau 35.

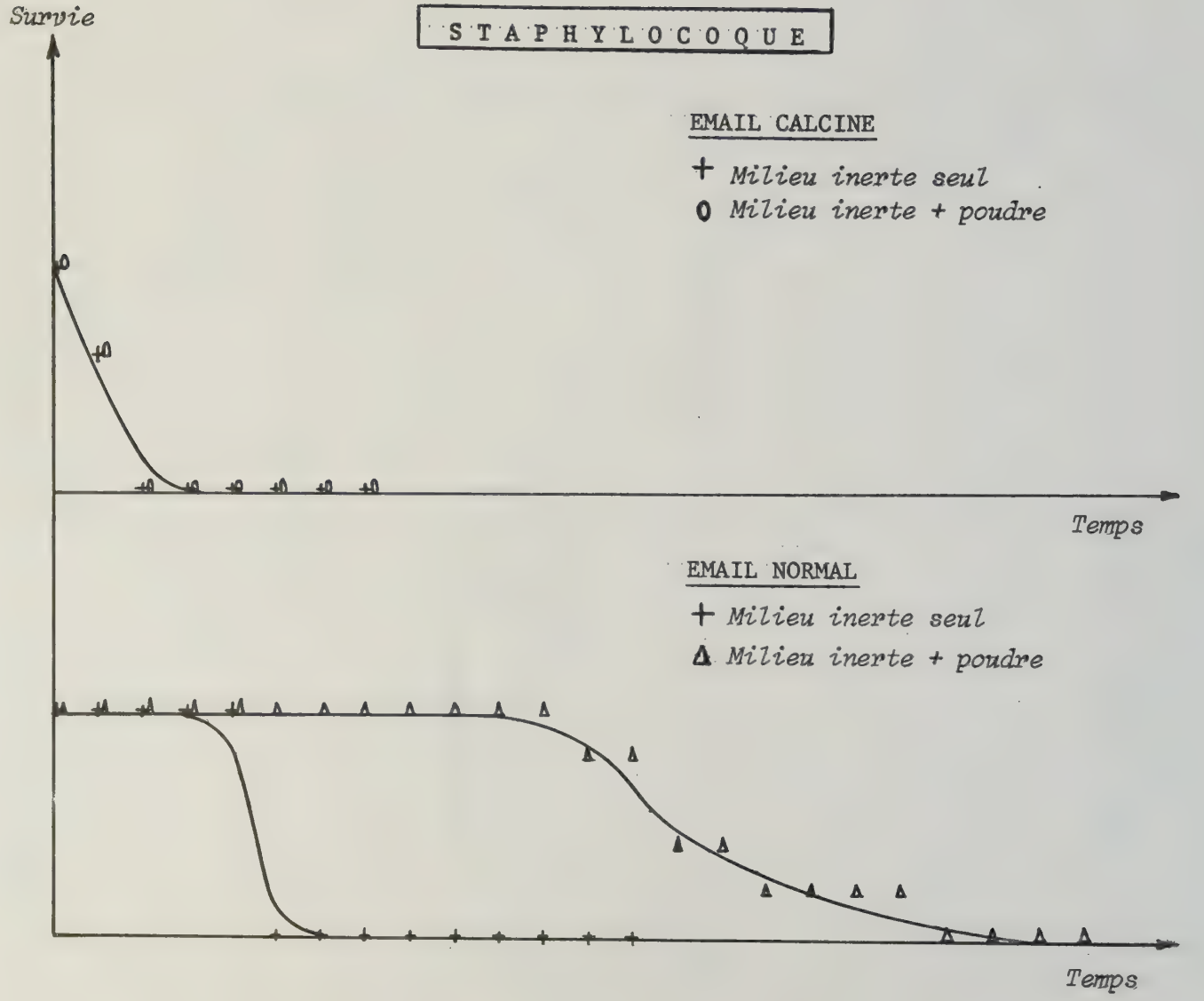
STREPTOCOCCUS MITIS



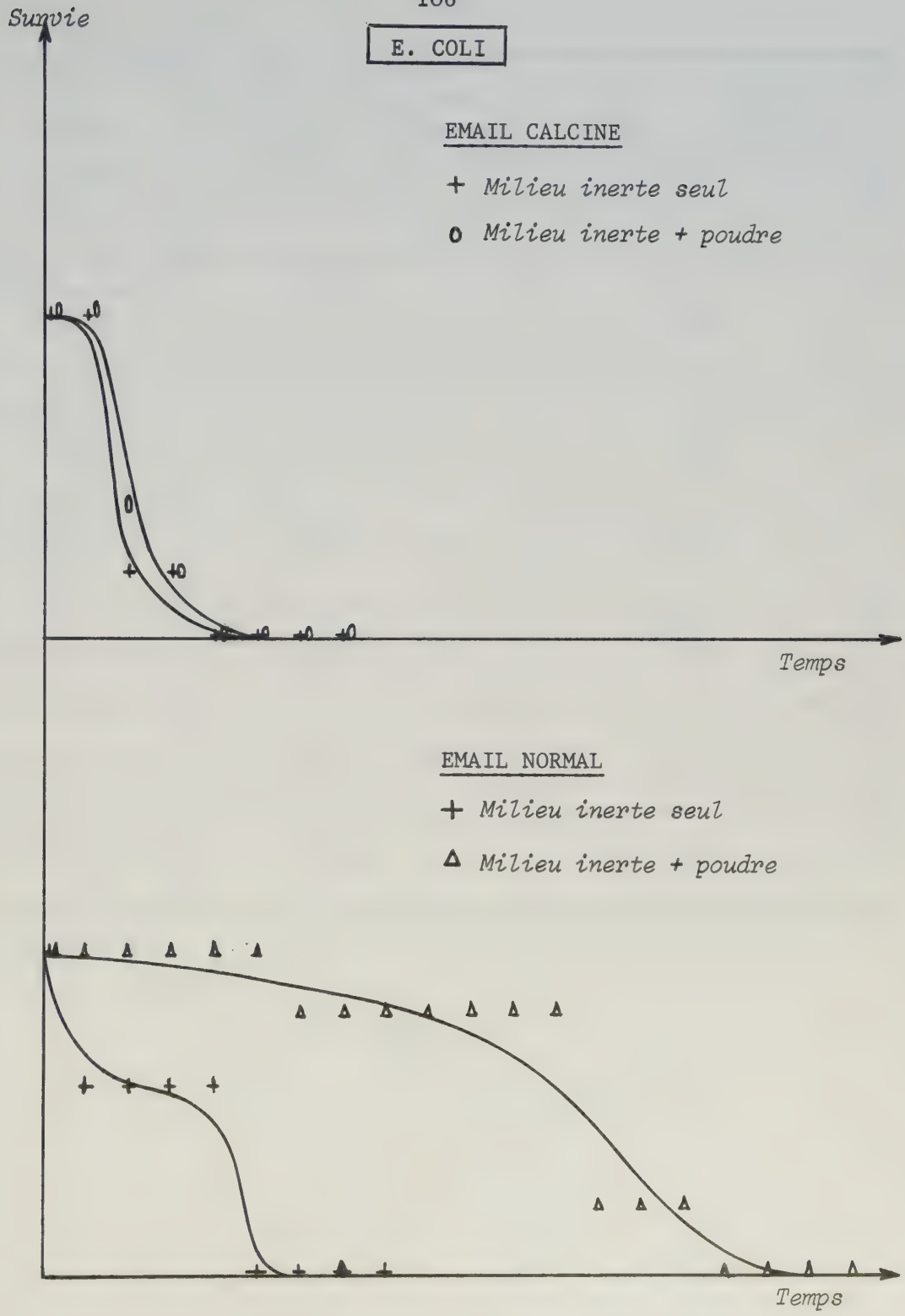

Survie
STREPTOCOCCUS SANGUIS
EMAIL CALCINE
+ Milieu inerte seul
0 Milieu inerte + poudre
Temps
EMAIL NORMAL
+ Milieu inerte seul
0 Milieu inerte + poudre
Temps


Survie
STREPTOCOCCUS SALIVARIUS
EMAIL CALCINE
+ Milieu inerte seul
0 Milieu inerte + poudre
Temps
EMAIL NORMAL
+ Milieu inerte seul
Δ Milieu inerte + poudre
Temps


Survie
LACTOBACILLE
EMAIL CALCINE
+ Milieu inerte seul
0 Milieu inerte + poudre
Temps
EMAIL NORMAL
+ Milieu inerte seul
Δ Milieu inerte + poudre
Temps


Survie
STAPHYLOCOQUE
EMAIL CALCINE
+ Milieu inerte seul
0 Milieu inerte + poudre
Temps
EMAIL NORMAL
+ Milieu inerte seul
Δ Milieu inerte + poudre
Temps

E. COLI


Survie
EMAIL CALCINE
+ Milieu inerte seul
o Milieu inerte + poudre
Temps
EMAIL NORMAL
+ Milieu inerte seul
Δ Milieu inerte + poudre
Temps

Souche étudiée	*Valeur de N exprimant le rapport des durées de vie sur milieu inerte + poudre d'émail normal et sur milieu inerte seul*	*Valeur de C exprimant le rapport des durées de vie sur milieu inerte + poudre d'émail calciné et sur milieu inerte seul*
Streptococcus mitis	$N = \frac{4,85}{1,13} = 4,28$	$C = \frac{1,79}{1,61} = 1,11$
Streptococcus sanguis	$N = \frac{1}{0,44} = 2,27$	$C = \frac{0,79}{0,64} = 1,23$
Streptococcus salivarius	$N = \frac{4,82}{3,32} = 1,45$	$C = \frac{3,11}{2,60} = 1,19$
Lactobacillus	$N = \frac{3,80}{0,24} = 15,83$	$C = \frac{0,24}{0,24} = 1$
Staphylococcus	$N = \frac{6,67}{1,96} = 3,40$	$C = \frac{0,57}{0,57} = 1$
Escherichia coli	$N = \frac{5,15}{1,38} = 3,73$	$C = \frac{0,96}{0,76} = 1,26$

Tableau 35

A la lecture de ce tableau, on peut constater que :

1 - Les chiffres correspondant au rapport C (cf. tableau 35) sont très voisins de 1 ; on peut en déduire que la durée de vie des bactéries est sensiblement la même sur le milieu inerte additionné d'émail calciné que sur le même milieu inerte seul.

2 - Au contraire, les chiffres correspondant au rapport N (cf. tableau 35) sont toujours supérieurs à 1 ; dans ce cas la durée de vie des bactéries est toujours plus longue sur le milieu inerte additionné d'émail normal que sur le même milieu inerte seul.

3 - Il existe des différences sensibles selon la nature des souches ; en effet, les valeurs de N vont en décroissant du Lactobacille (15, 83) à Streptococcus mitis (4, 28) à Escherichia coli (3, 73) à Staphylococcus (3, 40) à Streptococcus sanguis (2, 27) à Streptococcus salivarius (1, 45).

Il est à remarquer que cette valeur N, pour les Streptocoques, n'est pas supérieure à celle obtenue pour les autres bactéries comme on aurait pu s'y attendre. Cependant, on constate qu'il existe, au sein du groupe des Streptocoques, une décroissance de ce rapport qui va dans le même sens que la décroissance dans la fréquence de leur implantation initiale sur la dent.

D - DISCUSSION ET CONCLUSION.

Nous avons déjà vu que DREIZEN, SPIRAKIS et STONE (25) ont constaté l'existence d'une survie des bactéries isolées de la salive et de dents cariées lorsque ces bactéries sont introduites dans des suspensions autoclavées de poudre de dents humaines.

Dans ces conditions, non seulement la poudre employée est composée de dentine et d'émail mais encore l'autoclavage peut dénaturer la matière organique.

Pour ces raisons, dans notre expérimentation, c'est l'émail seul qui intervient et la stérilisation par les Ultra-violets respecte la matière organique.

Il résulte de notre étude expérimentale que l'émail normal (non calciné), en fait, augmente la durée de survie de toutes les bactéries essayées. L'émail calciné, au contraire, ne modifie pas la durée de survie.

En conséquence, il semble que ce soit par sa fraction organique que l'émail intervienne puisque l'émail calciné n'exerce aucune action sur le métabolisme bactérien et que dans ce dernier cas la partie organique est entièrement détruite au cours de la stérilisation.

Par quels mécanismes ces composants organiques interviendraient dans le métabolisme ? Nous ne pouvons encore le préciser.

Nous remarquerons aussi que l'émail peut augmenter la survie d'autres souches bactériennes : Lactobacille, Staphylocoque, Colibacille, autant et même davantage que celle des Streptocoques.

Ce résultat semble indiquer que le critère étudié ne peut justifier, à lui seul, l'attraction sélective des Streptocoques sur l'émail et que cette implantation dépend vraisemblablement d'un mécanisme complexe dans lequel interviendraient d'autres facteurs du milieu buccal.

CONCLUSIONS GENERALES

De cette étude expérimentale, se dégagent les conclusions suivantes :

1 - L'implantation bactérienne sur la surface intacte d'une dent est précoce : elle s'effectue 2 h 30 minutes, en moyenne, après décapage et asepsie de la zone étudiée.

2 - Les Streptocoques sont les germes de primo-implantation sur la surface occlusale d'une dent cliniquement saine bien que le milieu ambiant soit polymicrobien.

3 - Parmi ces Streptocoques, ce sont les espèces dépourvues d'antigènes de groupe qui prédominent ; parmi celles-ci, Streptococcus mitis est numériquement le plus important (49 pour cent) puis viennent Streptococcus sanguis (39 pour cent) et Streptococcus salivarius (19 pour cent).

4 - L'émail ne se comporte pas comme un substrat biologique capable de stimuler la croissance des germes.

5 - L'émail se comporte comme un facteur de survie des bactéries, vraisemblablement par sa fraction organique.

6 - L'analyse de ce facteur indique qu'il ne résoud pas, à lui seul, le problème de la fixation précoce des Streptocoques sur la dent.

B I B L I O G R A P H I E

1. ARMSTRONG W.G., The composition of organic films formed on human teeth.
Caries Research, 1967, 1, 89-103.

2. ARMSTRONG W.G., HAYWARD A.F., Acquired organic integuments of human enamel : a comparison of analytical studies with optical phase contrast and electron microscope examinations.
Caries Research, 1968, 2, 295-305.

3. BERNARDI G., KAWASAKI T., Chromatography of polypeptides and proteins on hydroxylapatite columns.
Biochim.biophys.Acta, 1968, 160, 301-310.

4. BIBBY B.G., HINE M.K., Bacteriologic study of carious cavities.
J.A.D.A., 1938, 25, 1934-1937.

5. BIBBY B.G., Oral bacteriology : basic considerations bearing on disease and therapy.
J. Nat. Dent. Ass., 1939, 26.

6. BLACK G.V., Gelatine forming microorganisms.
Indep. Practitioner, 1886 b, 7, 546-548.

7. BLACK G.V., Dr. Black's conclusions reviewed again.
Dent. Cosmos, 1898, 40, 440-451.

8. BREWER,
J.A.M.A., 1940, 115, 598.

9. BÜHLMANN F., Ueber eine eigenthümliche auf den Zähnen des Menschen vorkommende Substanz.
Arch. Anat. Physiol., 1840, 8, 442.

10. BUTTIAUX R., BEERENS M., TACQUET A., Manuel de techniques bactériologiques.
1 vol., éditions médicales Flammarion, Paris, 1966.

11. CARLSSON J., EGELBERG J., Effect on diet on early plaque formation in man.
Odont. Revy, 1965, 16, 112-125.

12. CARLSSON J., Zooglea forming Streptococci, ressembling Streptococcus sanguis, isolated from dental plaque in man.
Odont. Revy, 1965, 16, 348-358.

13. CARLSSON J., Presence of various types of non-haemolytic Streptococci in dental plaque and in other sites of the oral cavity in man.
Odont. Revy, 1967 a, 18, 55-71.

14. CARLSSON J., Dental plaque as a source of salivary Streptococci.
Odont. Revy, 1967 b, 18, 173.

15. CARLSSON J., Plaque formation and Streptococcal colonization on teeth.
Odont. Revy, 1968, 19, 13.

16. CARLSSON J., A numerical taxonomic study of human oral Streptococci.
Odont. Revy, 1968, 19, 137-159.

17. CARLSSON J., SUNDSTRÖM B., Variations in composition of early dental plaque following ingestion of sucrose and glucose.
Odont. Revy, 1968, 19, 161-169.

18. CAYEUX P., Cours de Microbiologie systématique.
Institut Pasteur, Paris, 1970.

19. CRITCHLEY P., The breakdown of the carbohydrate and protein matrix of dental plaque.
Caries Research, 1969 a, 3, 249.

20. CRITCHLEY P., SAXTON C.A., The metabolism of gingival plaque.
Int. Dent. J., 1970, 20, 408-425.

21. DARGELOS R., BOUSSAGOL P., DORIGNAC G., VINCENT J.P., Implantation bactérienne précoce à la surface de l'émail dentaire.
Bull. Soc. Pharm., Bordeaux, 1971, 110, 105-110.

22. DARGELOS R., LACAZEDIEU M., DORIGNAC G., VINCENT J.P., A propos de la Microbiologie de la plaque dentaire.
1er Congrès du Cercle National d'Endodontie. Ajaccio, 1971, Rev. Fr. Odont. Stomat.

23. DAWES C., JENKINS G.N., TONGE C.H., The nomenclature of the integuments of the enamel surface of teeth. Brit. Dent. J., 1963, 115,65.

24. DOBBS E.C., Local factors in dental caries.
J.of Dent. Res., 1932, 12, 853-864.

25. DREIZEN S., SPIRAKIS C.N., STONE R.E., Human tooth structure as a bacterial culture medium.
J. of Dent. Res., 1966, 45, 976.

26. DRUCKER D.B., MELVILLE T.H., Computer classification of Streptococci, mostly of oral origin.
Nature, 1969, 221, 664.

27. EGELBERG J., A review of the development of dental plaque.
Dental Plaque , 1 vol., W.D. Mc Hugh, edit., E et S Livingstone, Londres, 1969, 9-16.

28. ERICSON T., Adsorption to hydroxylapatite of proteins and conjugated proteins from human saliva.
Caries Research, 1967, 1, 52.

29. FICINUS R., über das Ausfallen der Zähne und das Wesen der Zahnkaries
J. Chirurgie u. Augenheilk,1847, 36, 1.

30. FITZGERALD R.J., KEYES P.H., Demonstration of the etiologic role of Streptococci in experimental caries in the hamster.
J.A.D.A., 1960, 61, 23.

31. FITZGERALD R.J., Plaque microbiology and caries.
Alab. J. Med. Sciences, 1968, 5, 239.

32. FRANK R.M., BRENDEL A., Ultrastructure of dental plaque and the underlying enamel.
Arch. Oral Biol., 1966, 11, 883-912.

33. FRISBIE H.E., NUCKOLLS J., SAUNDERS J.B., Distribution of organic matrix of enamel in the human tooth and its relation to the histo pathology of caries.
J. Amer. Coll. Dentists, 1944, 11, 243.

34. GENCO R.J., EVANS R.T., ELLISON S.A., Dental research in microbiology with emphasis on periodontal disease.
J.A.D.A., 1969, 78, 1016-1036.

35. GEHRING F., Serologic studies of plaque microorganisms.
J. of Dent. Res., 1967, 46, 1244.

36. GIBBONS R.J., KAPSIMALIS B., SOCRANSKY S.S., The source of salivary bacteria.
Arch. Oral. Biol., 1964, 9, 101-103.

37. GIBBONS R.J., SOCRANSKY S.S., ARAUJO W.C., VAN HOUTE J., Studies of the predominant cultivable microbiota of dental plaque. Arch. Oral Biol., 1964, 9, 365-370.

38. GIBBONS R.J., Bacteriology of dental caries. J. of Dent. Res. 1964, 43, 1021 1028.

39. GIBBONS R.J., Metabolism of intracellular polysaccharide by Streptococcus mitis and its relation to inducible enzyme formation. J. of. Bact., 1964, 87, 1512-1520.

40. GIBBONS R.J., BANGHART S.B., Synthesis of extracellular dextran by cariogenic bacteria and its presence in human dental plaque. Arch. Oral Biol., 1967, 12, 11-24.

41. GIBBONS R.J., SPINELL D.M., Salivary induced agregation of plaque bacteria.
Dental plaque, 1 vol. W.D. Mc Hugh, edit., E et S Livingstone, Londres, 1969, 207-215.

42. GIBBONS R.J., FITZGERALD R.J., Dextran induced agglutination of Streptococcus mutans and its potential role in the formation of microbial dental plaque.
J. of Bact., 1969, 98, 341-346.

43. GIES W.J., KLIGER I.J., A biochemical study and differenciation of the oral bacteria with special reference to dental caries. J. Allied Denta. Soc., 1915, 10.

44. GLOCK G.E., MURRAY M.M., Chemical investigation of salivary calculus. J. of Dent. Res., 1938, 17, 257-264.

45. GOTTLIEB B., Dental Caries.
1 vol., Lea et Febiger, edit., Philadelphia Pensylvania,1947.

46. GUGGENHEIM B., KONIG K.G., MUHLEMANN H.R., Modifications of the oral bacterial flora and their influence on dental caries in the rat. I . Helv. Odont. Acta, 1965, 9, 121-129.

47. GUGGENHEIM B., KONIG K.G., MUHLEMANN H.R., Modifications of the oral bacterial flora and their influence on dental caries in the rat. II. Helv. Odont. Acta, 1965, 9, 130-134.

48. GUGGENHEIM B., KONIG K.G., REGOLATI B., Modifications of the oral bacterial flora and their influence on dental caries in the rat.III. Helv. Odont. Acta, 1969, 13, 13-21.

49. GUGGENHEIM B., Streptococci of dental plaque.
Caries Research, 1968, 2, 147-163.

50. GUILLO B., BARREAU C., Etude du processus carieux par immunofluorescence chez le rat germ free monocontaminé.
Rev. Fr. Odont. Stomat., 1969, 16, 349-362.

51. HAMMOND G., TUNNICLIFF R., Artificial caries produced by Streptococcus viridans.
J. of Dent. Res. 1940, 19.

52. HAY D.I., The adsorption of salivary proteins by apatite and enamel.
Arch. Oral Biol., 1967, 12, 937.

53. HEMMENS E.S., BLAYNEY J.R., HARRISON E.W., The microbic flora of bacterial plaque removed from carious and non carious dental enamel.
J. of Dent. Res., 1941, 20, 29-38.

54. HEMMENS E.S., BLAYNEY J.R., BRADEL S.F., HARRISON R.W., The microbic flora of the dental plaque in relation to the beginning of caries.
J. of Dent. Res., 1946, 25, 195.

55. HILLMAN J.D., VAN HOUTE J., GIBBONS R.J., Sorption of bacteria to human enamel powder.
Arch. Oral Biol. (in press).

56. HOUVER G., Contribution à l'étude de la plaque dentaire humaine. Thèse de doctorat en chirurgie dentaire, N° 3. Fac. de Méd. de Strasbourg, 1970.

57. JENKINS G.N., Composition and formation of dental plaque.
Rev. de Parodont., 1969, 23, 30-38.

58. JORDAN H.V., KEYES P.H., In vitro methods for the study of plaque formation and carious lesions.
Arch. Oral Biol., 1966, 11, 793-801.

59. KEYES P.H., Research in dental caries.
J.A.D.A., 1968, 76, 1357-1367.

60. KIRK E.C., A consideration of the question of susceptibility and immunity to dental caries.
Dent. Cosmos, 1910, 52, 729.

61. KOULOURIDES T., Experimental changes of enamel mineral density. Dental Caries Research, 1 vol., R.S. Harris edit., Academic Press, New-York and London, 1968, 355-378.

62. KRASSE B., The proportional distribution of Streptococcus salivarius and other Streptococci in various part of the mouth. Odont. Revy, 1954, 5, 203-211.

63. KRASSE B., The relationship between Lactobacilli, Candida and Streptococci and dental caries. Odont. Revy, 1954, 5, 241-261.

64. KRASSE B., JORDAN H.Y., The occurence of certain"caries inducing" Streptococci in human dental plaque material. Arch. Oral Biol., 1968, 13, 911-918.

65. KRASSE B., A review of the bacteriology of dental plaque. Dental plaque, 1 vol., W.D. Mc Hugh, edit., E et S Livingstone, Londres, 1969, 199-205.

66. LANCEFIELD R.C., A serological differenciation of human and other groups of haemolytic Streptococci. J. exp. Med., 1933, 57, 571-595.

67. LEACH S.A., SAXTON C.A., The acquired pellicle and plaque formed on the enamel of human subjects. Dent. Abst., 1967, 12, 290.

68. LEBER T., ROTTENSTEIN J.B., Untersuchungen über die caries der Zähne. A. Hirschwald, Berlin, 1876.

69. LENZ H., MÜHLEMANN H.R., In vivo and in vitro effects of saliva on etched or mechanically marked enamel after certain periods of time. Helv. Odont. Acta, 1963, 7, 30.

70. Mc DOUGALL W.A., Studies on the dental plaque I. The histology of dental plaque and its attachment. Aust. Dent. J., 1963 a, 8, 261-273

71. Mc DOUGALL W.A., Studies on the dental plaque II. The histology of the developing interproximal plaque. Aust. Dent. J., 1963 b, 8, 398-407.

72. Mc DOUGALL W.A., Studies on the dental plaque III. The effect of saliva on salivary mucoïds and its relationship to the regrowth of plaque. Aust. Dent. J., 1963 c, 8, 463-467.

73. Mc GAUGHEY C., STOWELL E.C., Adsorption of salivary proteins by hydroxylapatite.44 th meeting.
I.A.D.R., Abstr., 1966, 456.

74. Mc GAUGHEY C., STOWELL E.C., The adsorption of salivary proteins by hydroxylapatite.45 th meeting.
I.A.D.R., Abstr., 1967, 199.

75. Mc GAUGHEY C., FIELD B., Effect of salivary on adsorption of cariogenic Streptococci by hydroxylapatite.
I.A.D.R.,preprinted Abstracts, 47 th general meeting, Abstr., 1969, 83.

76. MANDEL I.D., Plaque and calculus.
Alab. J.Med. Sciences, 1968, 5, 313.

77. MANLY R.S., DAIN J.A., Hydrolisis of polysaccharides by oral microorganisms.
Int. Ass. Dent. Res., 1963, 41 st. Gen. Meeting, Abstr.,125.

78. MAZZARELLA M.A., SHKLAIR I.L., Studies on oral Veillonella.
J. of Dent. Res. 1960, 39, 685.

79. MECKEL A.H., The formation of organic films on teeth.
Arch. Oral Biol., 1965, 10, 585.

80. MECKEL A. H., Organic deposits on dental enamel.
Caries Research, 1968, 2, 104.

81. MILLER W.D., A study of certain questions relating to the pathology of the teeth.
Dent. Cosmos, 1904, 46, 981.

82. MILLER W.D., A study of certain questions relating to the pathology of the teeth.
Dent. Cosmos, 1905, 47, 18.

83. MILLIN D.S., SMITH M.H., Nature and composition of dental plaque.
Nature, 1961, 189, 664.

84. MUHLEMAN H.R., Speculations on the role of microbial deposits in calculus formation.
Parodontology and Acad. Rev., 1967, 1, 117-123.

85. NOLTE W.A., Oral microbiology.
1 vol., the C.V. mosby Company, edit., Saint-Louis, 1968.

86. PINCUS P., Pathogenesis of dental caries.
Brit. Dent. J., 1944, 76, 231.

87. RACADOT J., WEILL R., Histologie dentaire,
1 Vol., J. Prélat, édit., Masson et Cie, Paris, 1966.

88. RITZ H.L., Microbial population shifts in developing human dental plaque.
Arch. Oral Biol., 1967, 12, 1561-1568.

89. RITZ H.L., Fluorescent antibody staining of Neisseria, Streptococcus and Veillonella in frozen sections of human dental plaque
Arch. Oral Biol., 1969, 14, 1073.

90. RITZ H.L., The role of aerobic Neisseirae in the initial formation of dental plaque.
Dental plaque, 1 vol., W.D. Mc Hugh, edit., E.et S. Livingstone, Londres, 1969, 17-25.

91. ROGERS A.H., The proportional distribution and characteristics of Streptococci in human dental plaque.
Caries Research, 1969, 3, 238-248.

92. ROGOSA, MITCHELL, WISEMAN, L.B.S. medium-Lactobacillus selection agar.
J. of Bact., 1951, 62, 132.

93. RÖLLA G., KORNSTAD L., MATHIESEN P., PROVATONE L., Selective adsorption of an acidic glycoprotein from human saliva to tooth surfaces.
J. Periodont. Res., Suppl. 4, 1969, 8.

94. RÖLLA G.,MATHIESEN P., The adsorption of salivary proteins and dextrans to hydroxylapatite.
Dental plaque, 1 vol., W.D. Mc Hugh, edit., E et S. Livingstone,Londres, 1969, 129-140.

95. ROLLA G., Adsorption of dextran to saliva treated hydroxylapatite.
Arch. Oral Biol., 1971, 16, 527-534.

96. SAXTON C.A., Scanning electron microscope study of bacterial colonisation of the tooth surface.
The 2nd International Symposium on the composition, properties and fundamental structures of tooth enamel. London, june, 1969.

97. SCHATZ A., MARTIN J.J., Some perspective of dental caries research : microbiological and biochemical considerations.
Ann. Dent., 1958, 17, 1.

98. SCHATZ A., MARTIN J.J., Proteolysis chelation theory of dental caries.
J.A.D.A., 1962, 65, 368.

99. SCHROEDER H.E., Inorganic content and histology of early dental calculus in man.
Helv. Odont. Acta, 1963, 7, 17-30.

100. SCHROEDER H.E., Crystal morphology and gross structures in mineralizing plaque and calculus.
Helv. Odont.Acta, 1965, 9, 73.

101. SCHROEDER H.E., DE BOEVER J., The structure of microbial dental plaque.
Dental plaque, 1 vol., W.D. Mc Hugh, edit., E et S. Livingstone, Londres, 1969, 49-74.

102. SCHULE H., Das Schmelzoberhaütchen.
G. Thieme, Stuttgart, 1962.

103. SCHWARTZ R.S., MASSLER M., Tooth accumulated materials : a review and classification.
J. Periodont., 1969, 40, 407-413.

104. SILVERMAN G., KLEINBERG I., Studies on factor affecting the agregation of microorganisms in human dental plaque.
Arch. Oral Biol., 1967, 12, 1407-1416.

105. SOGNNAES R.F., Dental hard tissue destruction with special reference to idiopathic erosions. In "mechanisms of hard tissue destruction".
Am. Assoc. Advance Sci., Washington, 1963, 75, 91.

106. STEPHAN R.M., The dental plaque in relation to the etiology of caries.
Int. Dent. J. 1953, 4, 180.

107. STRALFORS A., Investigations into the bacterial chemistry of dental plaque.
Odont. Tidska, 1950, 58, 155-341.

108. THEILADE J., WRIGHT W.H., JENSEN S.B., LOE H., Experimental gingivitis in man II. A longitudinal clinical and bacteriological investigation.
J. Periodont. Res., 1966, 1, 1-13.

109. THEILADE E., THEILADE J., Bacteriological and ultrastructural studies of developing dental plaque.
Dental plaque, 1 vol.,W.D. Mc Hugh, edit., E et S. Livingstone, Londres, 1969, 27-40.

110. TISELIUS A., HJERTEN S., LEVIN O., Protein chromatography on calcium phosphate columns.
Arch. Biochem., 1956, 65, 132-155.

111. TRESTER P.H., KLEINBERG.I., Studies on the mechanism of dental plaque formation.
Int. Ass. for Dent. Res., Abstracts, 1962.

112. VAN HOUTE J., GIBBONS R.J., BANGHART S.B., Adherence as a determinant of the presence of Streptococcus salivarius and Streptococcus sanguis on the human tooth surface.
Arch. Oral Biol., 1970, 15, 1025-1034.

113. WEIDMANN S.M., HAMM S.M.,
Tooth enamel, 1 vol., Stack M.V. et Fearnhead R.W., edit., Wright J. and sons, Bristol, 1964, 83-89.

114. WHIPPLE H.E., Mechanisms of dental caries.
Ann. New-York Acad. Sci., 1965, 131, 685-930.

115. WILD W., Wie sicht die plaque aus.
Schweiz. Michr. Zahnheilk, 1941, 51, 487.

116. WILLIAMS J.L., A contribution to the study of pathology of enamel.
Dent. Cosmos, 1897, 39, 169.

117. WILLIAMS J.L., On structural changes in human enamel with special reference to clinical observations on hard and soft enamel.
Dent. Cosmos, 1898, 40, 505-537.

118. WILLIAMS J.L., A contribution to the bacteriology of the human mouth.
Dent. Cosmos, 1899, 41, 317-349.

119. WINKLER K.C., DIRKS O.B., The mechanism of dental plaque.
Int. Dent. J., 1958, 8, 561.

120. WORLD HEALTH ORGANIZATION, Periodontal disease. Report of an expert committee on dental health.
Int. Dent. J., 1961, 11, 544-566.

121. ZIPKIN I., Art and Sciences of dental caries Research,
1 vol., Harris R.S., edit., Academic Press New-York and London, 1968, 29-33.

Editions BERGERET - 2, rue Bergeret - Bordeaux - Tél. 91.12.59. -